

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931.

N° 2.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE ET CRITIQUE
DES PRINCIPAUX
PROTOZOAIRE COPROPHILES
DE L'HOMME

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie).

Présentée et soutenue le 1930

PAR

PIERRE HEON

PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE

JURY { MM. COUTIÈRE, Président;
GRIMBERT, Professeur;
MASCRÉ, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT
4, RUE CASSETTE, 4

1930

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931.

N° 2.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE ET CRITIQUE
DES PRINCIPAUX
PROTOZOAIRE COPROPHILES
DE L'HOMME

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie).

Présentée et soutenue le 1930

PAR

PIERRE HEON

PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE

JURY { MM. COUTIÈRE, Président;
GRIMBERT, Professeur;
MASCRÉ, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT.

1, RUE CASSETTE, 1

1930

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS :

MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, C. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
Membre de l'Institut.	
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIERE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
GUERBET, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, ✱, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.

Professeurs honoraires : MM. A. VILLIERS, ✱, ☉ I., GRIMBERT, ✱, ☉ I.
et DELÉPINE O. ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS :

MM. Marc HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie.
LAUNOY, ✱, ☉ I.	Pharmacodynamie.
FABRE, ☉ I.	Minéralogie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM. LUTZ, ✱, ☉ I.	MM. FABRE, ☉ I.
LAUNOY, ✱, ☉ I.	MASCRÉ, ☉ I.
DELABY, ✱, ☉ A.	FLEURY, ☉ I.
PICON, ☉ I.	BACH, ☉ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES :

MM. N.	Chimie générale.
FABRE, ☉ I. et REGNIER, ☉ I., <i>agregés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX, ☉ I.	Physique.
DEVAL, ☉ I.	Microbiologie.
DELABY, ✱, ☉ A., PICON, ☉ I. et FLEURY, ☉ I. :	<i>agregés</i> , chargés des travaux généraux de 4 ^e année.

Bibliothécaire en chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR GRIMBERT

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

En témoignage de ma profonde gratitude.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR COUTIÈRE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

PROFESSEUR DE ZOOLOGIE A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Hommages respectueux et reconnaissants.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

MEIS ET AMICIS

AVANT-PROPOS

Le sujet de ces recherches nous a été indiqué par M. le Professeur Coutière. Nous le remercions de l'accueil bienveillant qu'il nous a fait dans son laboratoire et nous le prions d'accepter l'hommage de notre très respectueuse reconnaissance pour l'intérêt qu'il nous a témoigné.

Nous exprimons notre profonde gratitude à M. le Professeur Grimbart qui a eu la bonté de suivre continuellement nos efforts et de les assister de sa haute autorité.

Nous tenons à remercier M. Rondeau du Noyer de nous avoir si obligeamment initié aux études scientifiques et à la pratique du microscope.

A notre camarade et ami, le Docteur Jacques Sautet, nous sommes reconnaissant des conseils éclairés qu'il nous a donnés et qui ont guidé la marche de notre travail.

Nous remercions également M. le Professeur agrégé Mascré d'avoir bien voulu faire partie de notre jury.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE ET CRITIQUE DES PRINCIPAUX PROTOZOAIRE COPROPHILES DE L'HOMME

INTRODUCTION

Parmi les nombreux moyens d'investigation de l'appareil digestif, la coprologie est venue, ces dernières années, occuper une place de première importance.

Nous n'étudierons ici que la coprologie parasitologique.

Pratiquée depuis une époque très lointaine, l'analyse parasitologique des matières fécales se limitait encore, le siècle dernier, à la recherche des vers intestinaux.

Déjà, cependant, en 1681, l'ingénieur naturaliste et opticien hollandais Leuwenhoeck avait découvert un Flagellé mesurant environ 20 μ : le *Lamblia intestinalis*, à l'aide des microscopes rudimentaires qu'il avait réussi à construire.

Plus tard, lorsque le microscope parvint à son état de perfection, le domaine de la coprologie fut brusquement étendu et rendit possible le diagnostic d'affections dont la cause était inconnue jusqu'alors, particulièrement celui des maladies à Protozoaires. Mais la recherche des Protozoaires dans les selles est difficile; on peut se méprendre sur la détermination du parasitisme et souvent les agents extérieurs faussent les expériences.

C'est ainsi que, pendant longtemps, beaucoup d'observateurs ont cru cultiver l'Amibe dysentérique, alors qu'en réalité ils n'obtenaient que des formes libres.

En 1894, Kartulis avait prétendu élever des Amibes de l'intestin humain. Mais, dès 1895, Celli et Fiocca constatèrent qu'il s'était trompé. Ils démontrèrent que ces cultures contenaient des Amibes libres non parasites. Leur réfutation fut d'ailleurs confirmée par Casagrandi et Barbagalo en 1897.

Plus tard, Lesage, Musgrave et Clegg, ainsi que Walker, prétendirent aussi avoir cultivé des Amibes dysentériques, mais Kürt Nägler, en 1909, fut persuadé qu'ils avaient de nouveau présenté des Amibes simplement saprophytes ou libres, ingérées à l'état de kystes et écloses dans l'intestin. A ce propos, il insista sur l'importance de l'étude des Amibes libres en protistologie médicale. C'est la connaissance insuffisante de ce sujet qui a si longtemps induit les auteurs en erreur.

Il faut d'abord mentionner que les Amibes libres se cultivent beaucoup plus aisément que les Amibes pathogènes, puis que le développement des Amibes coprophiles a lieu dans les selles après leur émission, soit que ces Amibes y préexistent sous la forme de kystes, soit que l'air ou les liquides d'expérience les y apporte.

R. T. Wells, en 1914, a paru démontrer, par des expériences qu'il fit aux Indes, que l'air contenait en suspension des kystes d'Amibes libres. Il pensa que ces organismes pouvaient contaminer les matériaux d'où l'on tente d'isoler les Amibes parasites, malgré tout le soin donné au prélèvement.

Des Insectes, tels que les Mouches, contribuent aussi à la pollution des cultures.

J. W. S. Macfie, en 1917, a constaté à Accra que le col de bouteilles d'eau physiologique ou d'eau distillée portait des Protozoaires au contact du bouchon de verre.

Pour éviter ces écueils, il importe de procéder aux expériences protistologiques avec le plus grand soin.

La verrerie, les instruments de laboratoire, l'eau et les solutions de dilution doivent être stérilisés. Les colorants et autres réactifs doivent être purs.

Enfin, il est nécessaire de préparer avec une asepsie rigou-

reuse les milieux de culture qui ne sont pas toujours stérilisables, comme les liquides physiologiques, les sérums ou les plasmas sanguins.

L'opérateur doit exécuter de façon impeccable le prélèvement et la technique, puis joindre, à la rigueur expérimentale, la connaissance la plus exacte possible des Protistes susceptibles de passer dans l'appareil digestif sans y être tués.

Dans notre modeste travail, nous avons tenté de contribuer à la détermination des Protozoaires coprophiles non parasites et non pathogènes de l'Homme.

Nous allons consacrer les premiers chapitres aux méthodes d'investigation et de culture et nous procéderons ensuite à l'étude systématique et critique des Amibes, Ciliés et Flagellés coprophiles de l'Homme.

Nous n'avons pu faire qu'une bibliographie très restreinte parmi le grand nombre des ouvrages de savants du monde entier qui traitent des Protozoaires.

Nous devons le reste de notre documentation au livre remarquable de C. M. Wenyon ainsi qu'au Bulletin de l'*Institut Pasteur* si utile aux recherches scientifiques.

PREMIÈRE PARTIE

MÉTHODES D'INVESTIGATION

Nous allons commencer par examiner la façon de découvrir les Protozoaires et celle de les reconnaître.

Méthodes d'enrichissement.

Les Protozoaires, ou leurs kystes, ne se trouvent pas toujours en grande quantité dans les matières fécales.

Il faut, pour les découvrir plus facilement et plus sûrement, procéder à l'enrichissement.

Parmi les nombreuses méthodes d'enrichissement, nous citerons :

1° MÉTHODE DE J. W. CROPPER ET R. W. HAROLD ROW (1). — Cropper et Harold Row préconisent une méthode d'enrichissement dont voici le principe :

Emulsionner les prélèvements de la selle à examiner par agitation dans l'eau physiologique.

Puis, séparer les kystes des débris fécaloïdes par addition d'éther et centrifugation (les débris fécaloïdes absorbent l'éther et se réunissent au-dessus de la solution saline tandis que les kystes amibiens restent dans cette solution).

On peut alors examiner le culot au Lugol.

(1) CROPPER (J. W.) et ROW (R. W. Harold) : A method of concentrating *Entamoeba* Cysts in stools. *Lancet*, 3 février 1917, p. 179-181, fig.

2^e MÉTHODE DE TELEMANN MODIFIÉE PAR LANGERON ET RONDEAU DU NOYER (1). — *Premier temps : Dilution.* — Diluer les matières fécales pour les transformer en une pâte très fluide qui puisse passer à travers un tamis. Le meilleur liquide de dilution est l'eau physiologique.

Deuxième temps : Tamisage. — Filtrer la dilution sur un tamis pour la débarrasser des fragments grossiers qui gêneraient les autres opérations. Faire le tamisage sur des toiles de bronze inoxydables et faciles à nettoyer.

Troisième temps : Traitement par l'acide chlorhydrique. — Le liquide tamisé est additionné de la moitié de son volume d'acide chlorhydrique ordinaire, étendu de son volume d'eau. Agiter et laisser reposer pendant quelques minutes. On dissout ainsi les savons, les phosphates, les sels de calcium, la mucine et la majeure partie des albuminoïdes. Le filtrat prend une teinte rougeâtre.

Quatrième temps : Traitement par l'éther. — Ajouter au mélange acide la moitié de son volume d'éther sulfurique ordinaire; agiter d'abord avec précaution, puis plus fortement, de manière à obtenir une émulsion homogène. On dissout ainsi les graisses neutres et les acides gras.

Cinquième temps : Centrifugation. — Verser l'émulsion dans les tubes d'un centrifugeur, tourner 50 à 100 tours au plus, la masse se divise en quatre couches : en haut, l'éther chargé de graisses et de matières colorantes; au-dessous, une couche épaisse formée de fins détritits non figurés et non déterminables; plus bas, une couche de liquide acide et coloré; enfin, à la partie inférieure, un culot renfermant des parties lourdes : débris végétaux, kystes de Protozoaires, œufs d'Helminthes.

Sixième temps : Examen. — On se débarrasse des trois couches supérieures en retournant le tube d'un coup sec : le culot reste adhérent au fond et on en prélève, avec une pipette effilée, une portion qu'on examine entre lame et lamelle. (Pour les détails de technique, se reporter à la *Coprologie microscopique* de Langeron, Rondeau du Noyer. Masson, édit., 2^e édition.)

(1) LANGERON et RONDEAU DU NOYER : *Coprologie microscopique*. Masson, édit., 2^e édition.

3° MÉTHODE DE BIDEGARAY (Telemann, Yorke-Adams). — L'avantage de cette méthode est de donner, par un procédé simple et rapide, les kystes de Protozoaires vivants et dans un parfait état de conservation. La dilution se fait avec la solution physiologique à 8 p. 1.000.

On tamise ensuite sur une toile de bronze.

Avec la dilution tamisée, on prépare deux tubes à centrifuger : l'un sera traité par la méthode Telemann, l'autre par la méthode Yorke-Adams. L'opération comporte donc deux temps.

Premier temps : Méthode Telemann.

Deuxième temps : Méthode d'Yorke-Adams simplifiée.

Ce temps n'est utile que s'il y a des kystes de Protozoaires. On se sert du deuxième tube rempli de la dilution tamisée, on centrifuge (cinq tours à la centrifugeuse à main) et on décante dans un nouveau tube (n° 3) le liquide du deuxième tube ainsi débarrassé de ses éléments grossiers.

On fait une seconde centrifugation à raison de 50 tours. On recouvre le culot de ce tube avec une solution à 20 p. 100 de sucre ordinaire.

On mélange bien et l'on centrifuge (50 tours). On décante le liquide de ce tube dans un verre et on l'étend de 4 volumes d'eau. On verse cette solution dans un quatrième tube et on le centrifuge à nouveau (50 tours).

On examine enfin le culot, en le colorant par la méthode de Bidegaray au Lugol double et à la thionine.

Le reste de la dilution contient des kystes vivants, il peut servir à faire des cultures.

Méthode de fixation et de coloration.

1° FIXATEUR DE BOUIN :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique . . .	30 volumes.
Formol à 40 p. 100.	10 —
Acide acétique cristallisable	2 —

Ce liquide se conserve peu de temps, aussi faut-il le préparer extemporanément.

Le mélange des deux premiers liquides est stable ; on ajoute l'acide acétique seulement au moment de l'emploi.

Les étalements doivent séjourner dans le fixateur un quart d'heure environ.

Il est ensuite essentiel de les laver à l'alcool pour éliminer l'acide picrique et parfaire la fixation.

2° COLORATION AU LUGOL :

Lugol	1 goutte.
Matières fécales diluées	1 —
Mélanger.	

Faire une préparation très mince entre lame et lamelle.

3° MÉTHODE DE GAUDUCHEAU (1909) : A. Gauducheu, en 1909, pour colorer l'ectoplasme et en particulier les pseudopodes, fixa ses préparations aux vapeurs osmiques et utilisa l'action successive d'une solution de tanin et de bleu de Kühne à chaud ; pour l'étude cytologique, il employa la fixation *Schaudinn* au sublimé à chaud et la coloration à l'hématoxyline ferrique de Lichtgühn.

4° MÉTHODE DE MATHIS (1) [1914] : C. Mathis donna en 1914 un procédé rapide de fixation et de coloration pour reconnaître aisément les kystes d'Amibes dans les selles.

Le principe de sa méthode, empruntée à Sinton, consiste en une fixation à l'acide osmique suivie d'une coloration à l'hématoxyline ferrique en solution aqueuse à 1 p. 200.

5° MÉTHODE DE DONADSON (1917) : Robert Donadson donna en 1917 une méthode pratique pour mettre en évidence les kystes de Protozoaires dans les selles.

1° On mélange à parties égales les deux solutions suivantes :

Solution A :

Iodure de potassium, en grammes	5
Eau, en grammes	100
Iodé, quantité suffisante pour saturer.	
Ether, en centimètres cubes	200

Solution B :

Solution aqueuse d'éosine et de rubine à saturation.

(1) MATHIS (C.) : Procédé rapide de fixation et de coloration pour reconnaître aisément les kystes d'Amibes dans les selles. *Bull. Soc. Méd. Chir. de l'Indochine*, t. V, avril 1914, 1 pl.

2° On dépose sur la lame un peu de ce mélange et un peu de la matière à examiner; on recouvre d'une lamelle.

L'épaisseur de la couche interposée doit être très faible.

Les kystes de Protozoaires s'aperçoivent facilement par suite du contraste en couleur et leurs caractères différentiels sont bien mis en évidence.

6° MÉTHODE DE WIENER (1917) : Elle consiste à fixer par l'action d'une solution d'iode à 1 p. 100 dans l'alcool méthylique; puis à colorer successivement au bleu de Löffler et par une solution d'éosine concentrée. On a une bonne coloration de contraste rouge-bleu comme avec le Giemsa.

Les noyaux sont bien colorés et bien différenciés.

7° MÉTHODE FRECH (1) [1923] : Pour fixer les Protozoaires, R. W. Frech, en 1923, adopte le liquide de Carnoy :

Alcool absolu	6 parties.
Chloroforme	3 —
Acide acétique glacial	4 —

Le mélange doit être fait au moment de l'emploi.

La fixation des frottis de selles ou de pus ne demande que dix à quinze minutes.

Le fixateur de Carnoy permet l'emploi de presque toutes les méthodes de coloration et particulièrement celle à l'hématoxyline ferrique.

8° MÉTHODE DE RAMIREZ ET CORRIA (1925) : C. M. Ramirez et Corria donnèrent en 1925 une méthode de coloration élective dans les coupes :

Fixer à l'alcool et au formol.

Inclure à la celloïdine, ou mieux, couper à la congélation; laver à l'eau distillée et passer à l'alcool (facultatif).

Laisser séjourner de une à quinze minutes à froid dans une solution aqueuse de tanin à 3 ou 8 p. 100. Laver à l'eau ammoniacale (1 goutte d'ammoniaque pour 100 cent. cubes d'eau distillée).

(1) FRECH (R. W.) : Acetic-Alcool fixation for parasitic amœbæ and for tissues. *Amer. Journ. of Trop. Med.*, t. III, mai 1923, p. 213-217 (3 pl.).

Maintenir les coupes jusqu'à jaunissement du bord, dans une solution composée de X gouttes, oxyde d'argent ammoniacal pour 10 cent. cubes d'eau distillée.

Cette solution se prépare de la façon suivante : on ajoute XL gouttes d'hydrate de potassium à 40 p. 100 à 30 cent. cubes d'azotate d'argent à 10 p. 100.

On lave le précipité deux ou trois fois à l'eau distillée ; on le redissout par addition d'ammoniaque et on complète à 150 cent. cubes avec de l'eau distillée.

Immerger à froid dans une solution de chlorure d'or à 1 p. 100 jusqu'à coloration violacée.

Fixer une minute dans une solution d'hyposulfite de soude à 5 p. 100 et faire séjourner une minute dans une solution de picro-carmin d'indigo.

Déshydrater, éclaircir de préférence dans le mélange suivant :

Xylol	80 cent. cubes.
Phénol	10 —
Créosote	10 —

Les détails cytologiques des Amibes et des tissus sont mis très nettement en évidence.

9° COLORATION A L'HÉMATOXYLINE FERRIQUE : La coloration à l'hématoxyline ferrique doit être précédée d'une fixation au Bouin.

Le premier temps consiste en un mordantage dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 3 p. 100. Cette solution doit être préparée fraîchement à froid avec de l'eau distillée et des cristaux d'alun de fer bien violets.

La durée du mordantage dépend de la température. A froid, il faut compter douze heures ; à 37° à l'étuve, une demi-heure suffit. On lave ensuite la lame rapidement à l'eau distillée et on la plonge dans une solution aqueuse à 1 p. 100 d'hématoxyline préparée en ajoutant à 9 volumes d'eau distillée 1 volume d'une solution à 10 p. 100 d'hématoxyline dans l'alcool à 90°. Ce colorant, qui est tout d'abord jaune-brun, virera rapidement au noir d'encre au contact des traces de fer qu'apportera la lame.

La durée de coloration varie avec la température : douze heures à froid, une demi-heure à 37°.

On lave rapidement à l'eau distillée, puis on différencie dans une solution d'alun de fer, de titre plus faible que celle du mordantage : 1,5 p. 100. La différenciation est délicate, il est bon de la suivre au microscope ; quand on juge la différenciation assez poussée, on lave la lame à l'eau distillée, on la plonge quelques secondes dans une solution aqueuse d'éosine qui servira de coloration de fond ; on la lave encore à l'eau distillée, puis on déshydrate en passant successivement par l'alcool à 70°, l'alcool à 90°, l'alcool absolu et enfin on passe au xylol et on monte au baume.

Toute la valeur de la préparation consiste dans une bonne différenciation.

Le degré désirable de différenciation varie selon le Protozoaire même qu'on veut observer, par exemple les *Trichomonas* demandent une différenciation très courte, sous peine d'être complètement décolorés. Les Amibes demandent une différenciation plus longue, pour bien montrer leur structure nucléaire.

Les formes kystiques exigent une différenciation plus longue encore.

À côté de cette technique, qui est celle de Haidenhein, il en existe d'autres utilisant également l'hématoxyline. Mais elles ne donnent pas de meilleurs résultats et ne sont pas moins délicates. Nous indiquerons cependant la technique de Nöller où la différenciation se fait automatiquement.

10° MÉTHODE DE NÖLLER : Mordantage dans l'alun de fer à 4 p. 100 (soixante minutes à 37°). Coloration dans l'hématoxyline à 1 p. 100 (soixante minutes à 37°), laver à l'eau distillée, différencier trois minutes et demie à quatre minutes et demie dans l'alun de fer à 2 p. 100.

D'après l'auteur, ce temps différencierait presque à coup sûr les Amibes. Pour les Flagellés, il faudrait une à deux minutes. Pour les Infusoires, il faudrait trois minutes.

11° HÉMALUN : Tant que la coloration précédente employait une laque ferrique d'hématoxyline, l'hémalun est une laque aluminique du même colorant. Sa technique est très facile, mais les résultats sont beaucoup moins bons que ceux de l'hématoxyline au fer.

La coloration de l'hémalun ne convient pas à la structure des Flagellés, qui est beaucoup trop fine, tandis qu'elle est, au contraire, le procédé de choix pour les Infusoires, car ces Protozoaires, extrêmement sidérophiles, se chargent de noir à l'hématoxyline ferrique et ne s'éclaircissent qu'avec un temps de différenciation extrêmement poussé.

On prépare une solution d'hémalun selon la formule suivante :

Hématoxyline cristallisée, en grammes	1
Iodate de sodium ou de potassium, en grammes	0,2
Alun de potasse, en grammes	50
Eau distillée, en centimètres cubes.	1.000

Cette solution mûrit en quelques jours. Quand elle est bien



FIG. 4. — *Stylylonychia mytilus*, vu de profil. Dessin d'après l'animal vivant très peu mobile sur un milieu de culture gélosé.

mûre, elle colore rapidement : dix à quinze minutes à la température ordinaire suffisent.

On différencie rapidement en agitant la lame dans de l'alcool à 70° additionné de IV à VI gouttes d'acide chlorhydrique pur ; on lave, on colore le fond à l'éosine, on déshydrate, on monte au baume.

12° COLORATION A L'ENCRE DE CHINE. — L'encre de Chine qui est une suspension de noir de fumée, dans une solution gélatineuse, a le grave inconvénient de contenir toujours des microorganismes vivants et d'être ainsi une cause d'erreur. Si l'on tient à son emploi, il faut observer les techniques de stérilisation convenables.

13° COLORATION A LA NIGROSINE. — M. Deflandre préfère la

nigrosine à l'encre de Chine. En 1923, il a étudié particulièrement ce procédé de coloration qui lui a donné de bons résultats.

14° COLORATION A LA THIONINE :

Solution saturée de thionine dans l'alcool à 60°. 1 gramme.

Eau phéniquée à 2 p. 100. 4 —

La coloration des frottis et des coupes se produit en quelques



FIG. 2. — *Stylosynchia mytilus*, vu par la face ventrale.
Sur fond noir, par la méthode du frottis sec à la nigrosine.

minutes et il n'y a guère que la chromatine de teinte. Pour assurer la conservation de la préparation, il faut employer la méthode de Masson, c'est-à-dire différencier dans l'eau *acidifiée* à 1/1.000 ou à 1/500, puis déshydrater rapidement et monter au baume sec.

CONCLUSION. — Ces divers procédés sont bons et ont leurs avantages particuliers.

Mais la méthode la plus pratique pour la recherche des Protozoaires est d'enrichir la selle à analyser suivant les indications de Telemann et Rivas et de colorer le culot au Lugol.

Cette méthode a cependant l'inconvénient de ne pas être suffisante pour l'étude de la cytologie fine et de donner des préparations qui ne se conservent pas. Aussi, pour faire un diagnostic précis, si l'on doute, il faut fixer la selle elle-même au Bouin et colorer à l'hématoxyline ferrique.

MÉTHODES DE CULTURES

La recherche des Protozoaires coprophiles, soit à frais, soit après coloration par le liquide de Lugol, est très délicate et ne donne pas toujours une certitude.

Il faut alors faire des frottis, puis les colorer à l'hématoxyline ferrique. Mais, bien souvent, cela ne suffit pas encore. Dans de nombreux cas, pour parvenir à une identification exacte, il faut entreprendre des cultures.

Les cultures ont deux utilités :

1° Elles multiplient les formes libres et enkystées, que l'on peut ainsi observer à loisir;

2° Elles permettent de déterminer nettement le parasitisme des Protozoaires, puisque seuls, ceux qui ne sont pas parasites, se cultivent sur les milieux simples et usuels et à la température du laboratoire, tandis que les rares Protozoaires parasites intestinaux qui cultivent poussent seulement à 37°.

Cultures des Amibes libres.

Les Amibes libres sont très abondantes, universellement répandues dans la nature et de découverte facile au moyen du microscope. Il s'en trouve partout : dans la terre, sur les bords d'une mare, sur une feuille qui pourrit dans un endroit humide et une infusion de paille ou de foin en montre presque

toujours, leur constituant même, à la rigueur, un milieu de culture satisfaisant. Car, nous l'avons déjà dit, les Amibes libres se cultivent aisément sur les milieux simples.

Un des premiers en date est le bouillon peptoné à la gélose que Gauducheau expérimenta en 1909.

HISTORIQUE. — *Milieu de Gauducheau* (1). — Gauducheau, en 1909, cultiva un Protozoaire provenant d'un intestin humain dysentérique qui se présentait en culture sous la forme d'une Amibe.

Il le cultiva pendant plusieurs années en lui faisant subir un grand nombre de repiquages sur gélose en présence du Bacille du typhus des Rats.

Le milieu de Gauducheau se composait de :

Bouillon peptoné à 1 p. 100	100 grammes.
Gélose	2 —

Gauducheau employait son milieu en tubes inclinés ou en boîtes de Pétri. Il l'employait en tubes inclinés pour repiquer la souche et la conserver pure et en boîtes de Pétri pour l'observation directe sous le microscope.

Gauducheau travailla aussi sur des milieux à la gélose et pomme de terre ou, au macaroni cuit, dans du bouillon à l'autoclave.

Les milieux liquides convenaient moins bien et les mélanges visqueux, comme de la gélose, additionnée d'un peu de sang en couche mince, n'étaient pas non plus très favorables.

Gauducheau déduisit de ses essais que l'association bactérienne était nécessaire à la réussite des cultures.

Il cita diverses espèces bactériennes du groupe typhique, le Vibron du choléra, ainsi qu'un Bacille immobile et polymorphe ayant les principaux caractères de culture du groupe *Pasteurella*, isolé d'un abcès hémorragique du foie de l'Homme.

Gauducheau constata en outre que l'association bactérienne devait être choisie et dosée. Il crut pouvoir attribuer beaucoup d'échecs d'expérimentation à l'existence dans les selles de Bac-

(1) GAUDUCHEAU (A.) (Inst. Pasteur) : Sur une culture amibienne. Deuxième note : Etude de l'Amibe. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. II, 24 juillet 1909, p. 370.

téries empêchantes ou simplement à la prédominance d'espèces peu favorables.

D'après lui, la multiplication des Amibes est étroitement conditionnée par l'état du milieu bactérien, non seulement par la nature de la Bactérie, mais aussi par son âge et sa forme de végétation.

Il est cependant possible d'obtenir des Amibes de culture, en substituant à la nourriture bactérienne différents succédanés.

A. Konokotina cultiva facilement, avec toute une série de levures, des Amibes isolées de la terre des vignobles de Crimée. Ces expériences expliquèrent, par là même, pourquoi la terre de certains vignobles était dépourvue des levures qui font fermenter le sucre, car elles montrèrent que les levures, développées en trop faible quantité, ont été facilement détruites par les Amibes du sol.

Rud-Ehler, en 1924, a essayé de même d'obtenir des cultures pures d'Amibes et de Ciliés à l'aide de levures, de sérums sanguins, devenus gélatineux, d'épinards broyés et cuits, et de produits chimiques.

Mais aucun de ces moyens n'a valu la nourriture bactérienne.

M. Couret et J. Walker ont également tenté d'obtenir des cultures pures d'Amibes.

Ils essayèrent d'y parvenir au moyen de tissus autolysés. Ils étendaient le suc d'organes autolysés à la surface de la gélose neutre.

Cette possibilité de cultures pures et sans Bactérie paraît avoir montré que des Amibes, comme celles des abcès du foie, se nourriraient du produit de désagrégation des tissus. Cette hypothèse concorderait d'ailleurs avec les faits suivants bien connus : que les Bactéries convenables aux cultures d'Amibes doivent être des espèces protéolytiques, qu'elles doivent être vivantes et que les extraits bactériens ne peuvent pas les remplacer.

Les cultures de M. Couret et J. Walker n'étaient satisfaisantes que dans une marge d'alcalinité et d'acidité très étroite.

Avec des Bactéries productrices d'acide, comme le *Bacterium coli*, il fallait que le milieu soit neutre ou alcalin. Avec du tissu légèrement acide, il fallait de la gélose neutre.

Cette dernière observation prouve que le pH a une importance aussi grande que l'association bactérienne dans les cultures d'Amibes libres.

Hugh Darby (1), en 1920, a étudié l'effet des variations de la concentration en ions hydrogènes sur la faune Protozoaire des collections d'eau naturelle.

L'étude suivie de deux étangs lui a montré que, si le pH reste constant, la faune ne change pas. Si certains organismes ne sont aucunement sensibles au pH , d'autres, au contraire, ne vivent que sous la condition d'un pH optimum.

Arthur Arndt, en 1922, fit remarquer que les essais de cultures d'Amibes avaient toujours été limités aux espèces de petites tailles, *Wahlkampfia* et autres, alors qu'il en existait un aussi grand nombre de plus de 50 μ de diamètre, dont certaines atteignaient jusqu'à 100 et 200 μ .

Arndt s'employa et réussit à cultiver 90 espèces de ces grandes Amibes dont 12 espèces d'Amibes testacées.

Il distingua ses méthodes en trois groupes : isolement des individus, sélection et enrichissement.

Pour isoler un seul individu, il usa de divers procédés :

1° Dilution du matériel Amibes libres ou enkystées, dans des gouttes successives, jusqu'à l'obtention de l'isolement d'un individu.

2° Découpage d'un fragment de gélose sur lequel on a reconnu l'existence d'une Amibe.

3° Étalement d'une très petite quantité de liquide amibien sur la gélose, de façon à isoler ainsi les individus.

Cette dernière méthode nécessite une certaine pratique et ne donne pas toujours de résultats satisfaisants.

Arndt préconisa le choix d'un milieu convenable pour chaque espèce.

Il fit des milieux extrêmement variés par leur état liquide ou solide, leur consistance, leur réaction, leur composition nutritive et les Bactéries associées.

Il recommanda comme milieux particulièrement utiles pour l'isolement et la culture des Amibes : le bouillon gélosé au

(1) DARBY (Hugh H.) : The effect of the hydrogen ions concentration on the sequence of the protozoan forms. *Arch. fur Protistenk*, t. LXV, 1920, p. 1-37.

Liebig, la gélose à infusion de foin ou de paille, la gélose de Musgrave-Clegg, la gélose à la solution de Knopp, la gélose à l'eau (eau distillée de robinet ou d'étang, avec 0,5 à 3 p. 100 de gélose), et, pour les Amibes, des poussières ou des crottes, il employa la gélose aux crottes de cheval selon la formule de Nöller.

Arndt montra ainsi comment les facultés d'enkystement, de reproduction et de mobilité des espèces pouvaient être utilisées à leur sélection, les espèces qui se déplacent le plus vite étant naturellement les plus faciles à isoler.

Il étudia enfin les Bactéries nutritives que l'on ensemence avant l'introduction des Amibes et montra que chaque Amibe se comportait d'une façon spéciale ; que l'on pouvait voir une espèce se déplacer d'un côté, une seconde espèce d'un autre et ainsi assister à leur séparation.

En raison du faible pouvoir de division des grosses Amibes, les deux premières méthodes d'isolement ne réussissent souvent pas et il faut recourir à une méthode d'enrichissement :

Cette méthode consiste principalement à gratter avec une lamelle une région riche en individus d'une vieille plaque et à repiquer avec cette lamelle une plaque fraîche.

On recommence plusieurs fois l'observation jusqu'à l'obtention d'une culture amibienne.

L'auteur recommande encore de nourrir ces grosses Amibes avec de petites Amibes et particulièrement des kystes ou des Amibes testacées.

CONCLUSION ET PROCÉDÉS DE CHOIX. — Nous avons cité l'étude de Arndt intéressant la culture des Amibes libres, mais les Amibes qui apparaissent sur agar, lorsque l'on y a étendu des selles humaines ou animales, sont habituellement de petites formes qui ne dépassent guère 10 à 20 μ de diamètre.

D'après les différents procédés employés par les auteurs, les conditions indispensables pour obtenir facilement de bonnes cultures d'Amibes libres sont les suivantes :

- 1° Les alimenter de Bactéries vivantes ;
- 2° Avoir un milieu d'une alcalinité convenable ;
- 3° Que ce milieu ne soit pas trop riche en matériaux nutri-

tifs afin d'éviter que la croissance des Bactéries ne dépasse celle des Amibes.

Wenyon a adopté le milieu de Musgrave et Clegg.

Chlorure de sodium, en grammes	20
Extrait de Bœuf (Liebig), en grammes	0,50
Eau, en centimètres cubes.	1.000

Cette solution a une alcalinité de 4,5 p. 100 à la phénolphtaléine; on en chauffe environ 100 cent. cubes jusqu'à liquéfaction et on coule dans une boîte de Pétri.

Avec un petit grossissement du microscope on peut voir les Amibes se répandre sur toute la surface de ce milieu et dépasser la croissance des Bactéries. La multiplication est rapide à la température du laboratoire et en quelques jours une boîte de Pétri contient un millier d'Amibes.

Au centre et dans les parties les plus vieilles de la culture, les Amibes donnent des kystes sphériques.

On obtient facilement des sous-cultures en transférant de petites portions sur des boîtes de Pétri fraîches.

On peut, sous un petit grossissement du microscope, à l'aide d'un filament de verre, finement étiré, et terminé par une perle arrondie, transporter une Amibe parfaitement isolée sur une nouvelle boîte de Pétri.

C'est le moyen d'obtenir la culture parfaitement pure d'une espèce.

Personnellement, nous avons toujours employé avec succès le milieu suivant :

Gélose, en grammes	1
Eau, en grammes	100
NaCl.	0,75

Stériliser à l'autoclave et incliner; si l'on veut avoir des cultures très riches on peut ajouter quelques gouttes de liquide albumineux.

Eau physiologique à 11 p. 1.000, en grammes	100
Blanc d'œuf.	1/2

Culture des Ciliés et des Flagellés.

Les conditions nécessaires à la culture des Ciliés et des Flagellés sont à peu près les mêmes que pour celle des Amibes.

Il faut un milieu suffisamment humide, d'une alcalinité déterminée et rendu nutritif par la présence des Bactéries.

Il est très difficile, d'après Lindwood Walker, en 1908, de s'affranchir de la culture mixte.

Ni les Ciliés, ni les Flagellés, ne poussent en l'absence de Bactéries.

D'autre part, les Ciliés et les Flagellés ne restent pas comme les Amibes dans l'eau de condensation où on les a ensemencés. Pour obtenir des cultures pures mixtes, il faut recourir à la méthode d'Ogata au moyen de tubes capillaires.

On remplit aux $3/4$ un tube capillaire stérilisé d'eau distillée stérile, ou bien d'une culture pure de Bactéries, puis on y introduit 1 à 2 cent. cubes d'eau renfermant le Protozoaire en évitant qu'une bulle d'air ne s'y interpose. On dépose le tube sur une lame et on l'examine au microscope.

Si l'on aperçoit un Protozoaire isolé qui s'est avancé de quelques centimètres, on brise alors le tube juste derrière lui et on l'ensemence dans une boîte de Pétri.

L'emploi d'une culture de Bactéries est préférable à celle de l'eau distillée stérile, car, dans ce dernier cas, il faut attendre quelques jours pour s'assurer que le Protozoaire a été isolé à l'état pur.

De sorte que pendant ce temps-là il s'enkyste et ne peut plus pousser qu'après un nouvel apport de Bactéries.

Plus tard, Ehler a essayé d'appliquer à la culture des Ciliés un procédé qu'il avait utilisé pour les Flagellés et qui réussit généralement avec les Amibes.

Cela consiste à ensemencer une Bactérie déterminée à la surface de la gélose à 1 p. 100 d'une boîte de Pétri et de déposer les Protozoaires impurs au centre de la plaque.

En trois jours, ils ont atteint la périphérie et on les y reprend pour recommencer la même opération sur une seconde plaque.

Généralement, après deux ou trois de ces opérations, les

Protozoaires ne sont plus accompagnés que de l'espèce bactérienne introduite ; on peut alors arriver rapidement à recueillir le Protozoaire débarrassé de tout Microbe vivant en se servant de plaques de gélose en boîte de Pétri, recouvertes de *Bacteria coli* tués par la chaleur.

Cette technique ne réussit pas avec tous les Ciliés, elle n'est applicable qu'aux espèces à corps mou et flexible, comme *Colpoda steini*.

En opérant comme il vient d'être dit, on a des cultures pures mixtes à la périphérie des boîtes de Pétri où l'Infusoire parvient en trois ou quatre jours et où il s'enkyste quelques jours après.

Il s'accommode très bien du *Bacterium coli* tué.

Les Ciliés et les Flagellés, contrairement aux Amibes, sont omnivores. Ils digèrent tout ce qu'ils ingèrent et s'accommodent aussi bien des Bactéries tuées que des Bactéries vivantes, de celles qui prennent le Gram et de celles qui ne le prennent pas.

Colpoda steini assimile les spores des champignons et des levures. On peut même le cultiver uniquement avec le *Saccharomyces exiguus*, mais la levure de bière est trop grosse pour son pharynx.

Øhler a obtenu de bons résultats en se servant de muscles de poisson cuit, puis réduits en poudre fine par trituration dans un mortier avec de la poudre de verre, dont on se débarrasse par centrifugation. On obtient ainsi des granules de la grosseur des Bactéries et qui présentent un mouvement brownien.

Øhler eut également des résultats favorables avec de la poudre d'albumine d'œuf ou de la caséine.

Lorsque l'on a obtenu une bonne culture d'Infusoires et de Flagellés, il est précieux d'améliorer les conditions d'existence et d'augmenter la vitalité des colonies.

Paul Statkewitsch, en 1904, préconisa d'éloigner des formes en culture leurs produits de désassimilation naturellement toxiques.

Pour cela, il conseilla de remplacer le liquide de culture par un liquide frais, d'agiter le liquide de culture et surtout de neutraliser graduellement la culture par du carbonate de sodium jusqu'à réaction faiblement alcaline, puis d'ajouter de très petites quantités de phosphate de calcium.

Paul Statkewitsch est ainsi parvenu à prolonger d'une façon pour ainsi dire indéfinie la vie des Infusoires dans les cultures et à mettre en évidence, après Calkins, que le nombre de leurs divisions dépend des conditions de nutrition.

L'addition de substances salines a une grande importance.

Enfin, l'emploi de milieux muco-colloïdaux est la méthode de choix pour étudier la structure des Protistes à l'état vivant et leur mouvement au ralenti.

CONCLUSIONS. — Il ressort de ces différents travaux que la culture mixte des Ciliés ou des Flagellés par les Bactéries est une méthode sûre, applicable à tous les genres; mais que, sous certaines conditions, l'on réussit à nourrir les Infusoires ou les Flagellés de Bactéries tuées, de levures et même de poudre de muscles de poisson, car ces Protozoaires sont des omnivores.

D'autre part, pour conserver des cultures bien vivantes, il importe de les débarrasser de leurs produits de désassimilation par des moyens mécaniques, de neutraliser le milieu par du carbonate de sodium et d'y ajouter de petites quantités de phosphate de calcium.

Tout ceci sans préjudice de l'emploi d'un milieu muco-colloïdal pour observer les Protistes au ralenti.

DEUXIÈME PARTIE

RHIZOPODES

Les principaux Rhizopodes coprophiles de l'homme sont de la classe des Amœbiens.

Amibes.

Nous nous proposons de faire une étude systématique et critique des Amibes coprophiles de l'Homme, c'est-à-dire des Amibes que l'on rencontre dans les selles, mais qui ne sont pas parasites, qui ont traversé l'appareil digestif sans y séjourner, ni vivre à ses dépens.

Généralités. — Les Amibes font partie de la classe des Amœbiens de l'embranchement des Rhizopodes.

Ce sont des Protozoaires sans membrane plastidaire, n'ayant ni cil, ni flagelle, et qui émettent, à leur périphérie, des expansions sarcodiques appelées pseudopodes.

Les Amibes sont des microorganismes transparents. Ils sont, en apparence, les individus les plus primitifs du règne animal : des Protistes.

La masse sarcodique, dont elles sont constituées, se compose de deux couches : l'une est externe et la plus claire : c'est l'ectoplasme, tandis que l'autre forme toute la masse interne du corps : c'est l'endoplasme qui contient un noyau et différentes inclusions : des grains d'excrétion, variables en nombre, en couleur et en dimension qui sont des produits de désassimi-

lation ; des globules graisseux, véritables substances de réserve ; des vacuoles alimentaires, capables de sécréter un suc digestif et d'assimiler des particules nutritives ; des bulles de CO_2 , produits d'excrétion respiratoire ; enfin les formes libres renferment toujours une vésicule pulsatile qui se dilate en une diastole, puis disparaît par une contraction brusque : systole.

L'Amibe émet, à divers points de sa surface, des expansions sarcodiques, constamment déformables, appelées pseudopodes.

Les pseudopodes servent au mouvement et à la préhension des aliments.

L'animal émet un ou plusieurs prolongements vers le point où il veut aller, puis la masse de la plastide semble couler vers eux et les pseudopodes grossissent à mesure que le corps diminue.

L'Amibe progresse donc lentement grâce à une sorte de reptation : c'est le mouvement amiboïde.

Lorsqu'un pseudopode rencontre une particule solide, il se déprime, puis finit par entourer le corpuscule en emprisonnant en même temps une petite quantité d'eau.

L'Amibe continuant à avancer, la vacuole et son contenu paraît s'enfoncer vers le centre, puis se rapprocher de la périphérie et finalement sort par un point de la surface du corps.

Le suc des vacuoles alimentaires contient des acides et des ferments fournis par le sarcode.

Ces substances dissolvent peu à peu les particules et les produits de la dissolution repassent dans le sarcode, par osmose, pour s'incorporer avec lui.

Les parties non dissoutes sont expulsées.

La respiration s'exerce par toute la surface du corps et l'oxygène pénètre par osmose.

La vacuole pulsatile ne se rencontre pas chez les Amibes parasites. Sa présence peut donc permettre une différenciation, puisque toute Amibe à vacuole pulsatile est une espèce libre, du moins chez les animaux à sang chaud.

La vraie signification de la vésicule pulsatile, quand elle existe, est encore discutée. Cette formation paraît répondre à un organe d'excrétion, car, à chaque systole, la paroi est rompue et le contenu rejeté à l'extérieur.

Le noyau des Amibes renferme un mélange de deux chroma-

tines : l'une, la chromatine végétative ou somatique, régit les phénomènes nutritifs de la plastide, tandis que l'autre, dite chromatine évolutive, intervient dans les phénomènes de multiplication et de reproduction.

Un noyau de cette nature, qui, en réalité, correspond à la fusion de deux noyaux distincts, est le type de l'amphicarion. La disposition de cette chromatine mixte est très variable, suivant les genres. En général, une partie en est distribuée contre la membrane nucléaire et l'autre est rassemblée au milieu du noyau, sous forme de grosses granulations : c'est le karyosome.

Celui-ci est rattaché à la périphérie par un réticulum et possède un centriole composé de chromatine évolutive.

A certains moments, le noyau du Rhizopode peut expulser dans le sarcode, tantôt la chromatine somatique, tantôt la chromatine évolutive, divisée en particules ou chromidies dont l'ensemble constitue l'appareil chromidial, sorte de noyau diffus.

Ce qui reste du noyau primitif n'a plus qu'une fonction végétative ou évolutive, selon la nature des chromidies émises.

D'autre part, le karyosome, avec son centriole, est un centre d'énergie cinétique.

La complication du noyau des Amibes rend leurs modes de reproduction par division simple très variés dans le détail.

La reproduction sexuée n'est connue que chez *Entamoeba blattae*.

La constitution des Amibes apparemment si élémentaire est en réalité d'une complexité infinie dans l'organisation de son noyau et dans la nature même de son sarcode.

Mais si la biologie de ces microorganismes attire la curiosité du naturaliste elle a, pour le médecin, une importance considérable.

Car certaines espèces d'Amibes se montrent des parasites pathogènes de l'intestin de l'homme. Elles y causent des ulcérations profondes et provoquent une maladie grave : la dysenterie amibienne.

Comme nous l'avons dit dans notre introduction, rien n'est aussi difficile que de distinguer ces Protistes et de ne pas les confondre avec d'autres Amibes, parfaitement inoffensives.

Ce sont ces Amibes libres, coprophiles, non pathogènes pour l'Homme, que nous nous proposons d'étudier.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DES PRINCIPALES AMIBES COPROPHILES DE L'HOMME

Les genres qui nous intéressent sont au nombre de quatre ; nous allons les étudier successivement.

Genre *Wahlkampfia* CHATTON ET LALUNG-BONNAIRE, 1912.

Les Amibes du genre *Wahlkampfia* sont de forme plus ou moins allongée.

Habituellement, elles émettent leurs pseudopodes à l'une de leurs extrémités ou tout auprès.

Elles ont un noyau dont le karyosome est excessivement grand, et sans chromatine périphérique.

Elles sont caractérisées par la formation de coiffes polaires pendant la division du noyau.

Et enfin la paroi des kystes de ces Amibes possède des pores.

GÉNÉRALITÉS. — Le genre *Wahlkampfia* fut créé en 1912, par Chatton et Lalung-Bonnaire (1), pour des Amibes du type *Limax-dujardini*, de 10 à 20 μ , cultivées sur milieu de Musgrave et Clegg et répondant à la description précédente.

Wahlkampfia, en 1905, avait déjà étudié des Amibes ayant aussi un noyau à grand karyosome central et le même mode de division nucléaire.

Ces auteurs ne sont pas affirmatifs sur le parasitisme.

Dangeard, en 1910 (2), avait nommé *Amœba punctata* une

(1) CHATTON et LALUNG-BONNAIRE (1912) : Amibe *limax* (*Wahlkampfia* n. gen.) dans l'intestin humain. Son importance pour l'interprétation des Amibes de culture. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. V, 1912, p. 135.

(2) DANGEARD (P. A.) : Etudes sur le développement et la structure des organismes inférieurs. *Le botaniste*, t. XI, 1910, p. 1-311, 33 planches, nombreuses figures dans le texte.

forme semblable. Ces auteurs n'observèrent pas de forme flagellée. Mais Alexeieff, en 1912, observa des formes flagellées de l'Amibe *Wahlkampfia punctata*.

Calkins, en 1913, sépara les Amibes qui ont ce type particulier de division nucléaire en deux genres, à savoir : le genre *Wahlkampfia* pour les formes qui ne se développent pas en stade flagellé et le genre *Naegleria*, créé par Alexeieff (1), en 1912, pour celles à stades flagellés.

La plupart de ces formes sont des Amibes libres, apparaissant communément dans le sol humide ou dans les matières

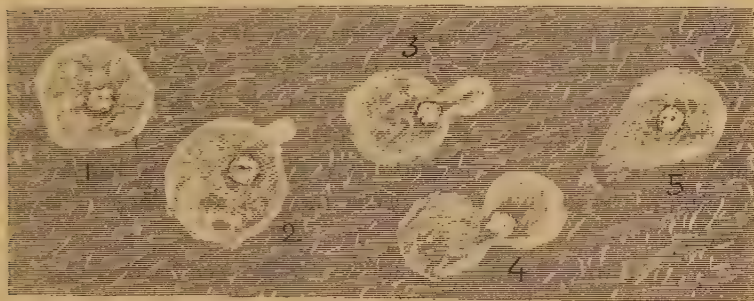


FIG. 3. — Déplacement d'une amibe (*Wahlkampfia*) pendant un temps à quarante-cinq secondes. Culture sur infusion de paille.

végétales en décomposition. On en a trouvé quelques-unes dans les intestins des animaux à sang froid.

Enfin, on en a considéré d'autres comme des Amibes coprophiles, parce qu'elles apparaissent dans les selles et qu'on les a cultivées à partir des matières fécales sur la gélose.

DIVISION NUCLEAIRE. — *Wahlkampfia* et *Naegler* décrivirent le mode de division des Amibes de l'ancien genre *Limax*.

Division par promitose, c'est-à-dire par étirement du karyosome, formation d'un fuseau et d'une plaque équatoriale, le tout sans membrane nucléaire persistante.

(1) ALEXEIEFF (A.) [1912] : Sur le stade flagellé dans l'évolution des Amibes *limax*. Stade flagellé chez *Amaba punctata* de Dangeard. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, 126.

Puis Alexeieff décrit comme il suit la division nucléaire qu'il a observée chez l'Amibe *Wahlkampfia punctata* de Dangeard et chez l'Amibe de Dujardin de l'ancien genre *Limax*.

C'est une promitose identique, à de menus détails près, à celle qu'ont fait connaître Aragao chez l'*Amœba diplomitotica*, Wasielewski chez deux Amibes de l'ancien genre *Limax* et Chatton chez *Amœba fæcicola*.

Alexeieff confirme, à l'encontre de *Wahlkampfia* et de Naegler, l'existence de chromatine figurée en dehors du karyosome et sa participation à la formation de la plaque équatoriale. Par contre, il n'a pas pu mettre en évidence de centriole dans le karyosome.

Gleaser observa la promitose dans la division du noyau de *Amœba tachipodia*. Ford (1) ne réussit pas à mettre en évidence une division nucléaire avec persistance de la membrane. Mais il signala la présence d'une plaque équatoriale parfaitement nette, en dehors de la division par étirement du karyosome, des filaments chromatiques avec fuseaux et cônes achromatiques.

L'auteur insiste surtout sur ces dernières formations qui n'ont pas été vues par Gleaser, pas plus d'ailleurs que par la plupart des auteurs qui ont étudié les Amibes de l'ancien genre *Limax*.

Ford croit que son Amibe est *Amœba tachipodia*.

J. Messiatzef, en 1916, confirme la promitose vue par Gleaser, le cylindre nucléaire, pendant la division, pouvant être plus ou moins allongé.

Jollos, en 1917, étudiant *Wahlkampfia magna* du purin, *Wahlkampfia lacertæ* de l'intestin de *Lacerta agilis*, *Wahlkampfia debilis* et *Hartmannella aquarum* de l'eau de rivière, arriva aux conclusions suivantes pour les *Wahlkampfia* présentant toutes un même mode de structure nucléaire et un même mode de division :

La chromatine est condensée en gros karyosome central. Le reste du noyau est alvéolaire et se colore plus ou moins. C'est

(1) FORD (E.) : On the nuclear division of a free living *Limax Amœba*. *Amœba tachipodia* de Gleaser. *Arch. f. Protistenk.*, t. XXXIV, 1914, p. 190-197, 1 planche double.

seulement cette dernière chromatine qui forme la plaque équatoriale.

Jollos suivit avec soin les dernières phases de la division : karyosome avec centriole, centrodosome, corps intermédiaires, sans apporter de faits particulièrement nouveaux.

La division du noyau, d'après Wherry, en 1926, est une promitose avec grosse masse directrice (binenkörper) et différenciation des chromosomes au nombre de 10 à 12, en forme

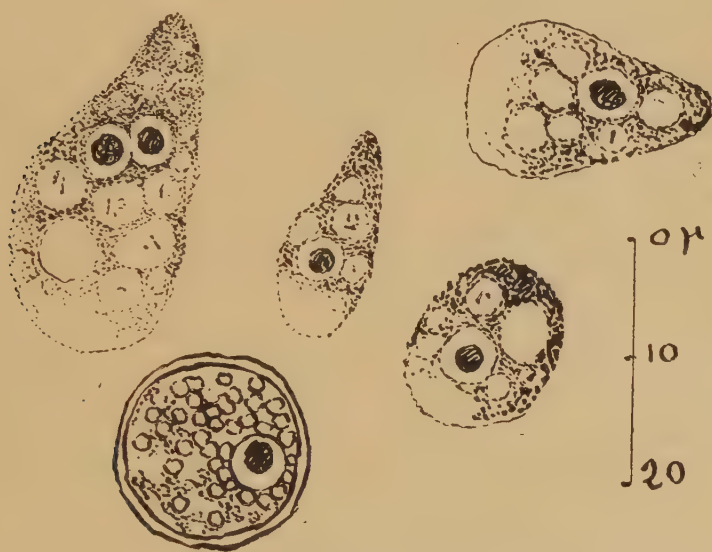


FIG. 4. — *Wahlkampfia punctata*, obtenue d'une macération de paille.
Coloration à l'hématoxyline au fer.

de courts bâtonnets. Ils se divisent en deux sur la plaque équatoriale et à la métaphase ils sont en double rangée.

Au stade améboïde, on constate l'existence de bâtonnets adhésifs.

Il ressort de ces observations successives que le mode de division nucléaire des Amibes du genre *Wahlkampfia* est une promitose avec formation d'un fuseau et d'une plaque équatoriale sans membrane nucléaire persistante. La chromatine est condensée en un gros karyosome central.

Wahlkampfia punctata DANGEARD, 1910.

Dangeard, en 1910, décrit comme *Amœba punctata* une forme de ce type qui a des kystes avec des marques ponctuées.

Chatton et Lalung-Bonnaire l'étudièrent en 1912. Ils l'obtinrent des selles humaines et la placèrent dans un nouveau genre : *Wahlkampfia punctata*.

Cette amibe est caractérisée par :

La présence d'un karyosome très volumineux qui se divise selon le mode décrit par *Wahlkampfia* et par Nägler.

Ce mode de division est une promitose, c'est-à-dire qu'il y a étirement du karyosome, formation d'un fuseau et d'une plaque équatoriale sans que le tout ne soit enveloppé d'une membrane nucléaire persistante.

Le kyste de *Wahlkampfia punctata* est orné de grosses ponctuations.

Ronald Ross, David Thomson et J. Gordon Thomson, en 1916, rencontrèrent des Amibes de l'ancien genre *Limax* dans les selles humaines; ces Amibes ne leur donnèrent pas de stade flagellé et ne parurent pas pathogènes pour les jeunes Chats.

Les auteurs ont observé la division binaire et la division multiple de l'Amibe mobile ainsi que la formation des kystes. Malheureusement les figures de multiplication à l'intérieur des kystes ne sont pas très démonstratives.

Wahlkampfia whitmorei HARTMANN ET SCHILLING, 1917.

Hartmann et Schilling, en 1917, placèrent dans le genre *Wahlkampfia*, sous le nom de *Wahlkampfia whitmorei*, une Amibe attribuée à l'ancien groupe *Limax* et cultivée par Whitmore, en 1914, à partir des selles humaines, du pus d'abcès du foie et de l'eau de robinet de Manille.

Ernest Lindwood Walker (1), en 1914, avait repris ces expé-

(1) WALKER (E. L.) [1914] : A comparative study of the Amœbæ in the Manila water supply, in the intestinal tract of healthy persons, and in amœbic dysentery. *Philippine Journ. Sc.*, (B), t. VI, p. 259.

riences et attribua comme Whitmore les Amibes de l'eau de robinet de Manille à l'ancien type *Limax*.

Wahlkampfla lobospinosa BECKER ET TALBOT, 1927.

Becker et Talbot, en 1927, étudièrent *Wahlkampfla lobospinosa* de Craig, 1912.

Ils trouvèrent cette Amibe normalement libre en nombre considérable dans le rumen d'un Veau (première cavité de l'estomac des Ruminants) sous deux formes, l'une uninucléée de 8 à 10 μ , l'autre multinucléée de 24 à 28 μ .

Wahlkampfla lobospinosa fut cultivée par Musgrave et Clegg. Elle peut vivre un certain temps dans l'intestin, mais n'est pas parasite.

Wahlkampfla froschi KÜRT NÄGLER
(syn. *Amæba froschi* de HARTMANN).

Kürt Nägler a étudié *Amæba froschi* dont la structure et l'évolution nucléaire sont semblables à celle de l'ancien type *Limax*. Cette Amibe isolée du tan, fort semblable à *Wahlkampfla punctata*, a 8 à 12 μ .

Elle possède un noyau sans membrane à karyosome entouré d'un espace libre.

Elle se divise par mitose simple : le karyosome et le centriole qu'il contient s'étirent en haltère. Entre les deux moitiés du karyosome (corps polaires) apparaît une plaque équatoriale, sans karyosome distinct.

Les deux moitiés de la plaque équatoriale, elles-mêmes divisées, émigrent vers les pôles et se fusionnent vers les corps polaires. Il est probable que les kystes procèdent à l'autogamie.

Wahlkampfla hominis CRAIG, 1906.

Craig (1), en 1906, trouva cette Amibe dans l'intestin humain aux États-Unis d'Amérique et aux Philippines.

(1) CRAIG (1906) : A new intestinal parasite of man. *Paramæba hominis*. *Amer. Journ. Med. Sc.*, t. CXXXII, p. 214.

Wahlkampfia migrans BARLOW, 1915.

Barlow la découvrit dans le Honduras en 1915.

Wahlkampfia tropicalis LESAGE, 1908.

Découverte par Lesage en 1908, serait synonyme de *Wahlkampfia migrans* et de *Wahlkampfia pellucida*.

Les Amibes *Wahlkampfia hominis*, *Wahlkampfia migrans*, qui auraient pour synonyme *Wahlkampfia tropicalis*, se ressemblent en ce qu'elles ont le mode de division nucléaire décrit par Wahlkampfia en 1905.

Les auteurs qui les ont décrites ne donnent pas des détails descriptifs suffisants pour leur attribuer une identité certaine.

Amibes se rapprochant du genre *Wahlkampfia*.

Entamoeba phagocitoides GAUDUCHEAU, 1914.

Gauducheau, en 1914, étudia cette Amibe qu'il gardait en culture depuis 1907, époque à laquelle il l'a isolée d'une selle dysentérique. Il montra que cette Amibe, par le bourgeonnement des colonies et l'agrégation des cellules qui surviennent dans les cultures plus âgées, paraît avoir des affinités avec les Myxomycètes.

Cette Amibe était sans doute un parasite facultatif de l'appareil digestif, car l'adaptation aux conditions de culture a été lente et difficile.

Gauducheau montra que les différences entre son Amibe et les *Entamoeba* ne sont pas très tranchées; parfois son Amibe présente un noyau à petits karyosomes, tout à fait du type *Entamoeba*.

Cette Amibe, enfin, est capable de se nourrir, en culture, de globules sanguins tout à fait comme l'Amibe dysentérique.

En 1922, Gauducheau (1) se basa sur ses anciennes observations du Tonkin et publia des articles où il s'attachait à montrer

(1) GAUDUCHEAU (A.) [1922] : Remarques sur les Amibes cultivables, parasites de l'intestin de l'homme. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XV, p. 229.

que, parmi les Amibes cultivées, à partir des matières fécales humaines, il y en a qui sont capables de vivre dans l'intestin.

C'est pour une Amibe de cette sorte que Gauducheau avait créé l'espèce *Entamœba phagocitoides*.

En réalité, il est bien probable qu'il y a eu confusion entre *Endolimax nana* et des Amibes libres.

Gauducheau dit cependant qu'il a retrouvé cette *Entamœba phagocitoides* en 1906, au cours d'examens méthodiques des



FIG. 5. — *Endolimax nana*, forme végétative.
Coloration à l'hématoxyline au fer.

selles de contingents annamites chez lesquels sévissait une épidémie de choléra.

Il la reproduisit par des figures et insista sur le grand développement de son ectoplasme qui occupe presque une moitié du corps.

Il affirma que cet ectoplasme était bien différent de celui des *Entamœba*.

Il ensemença des cultures avec ces matières fécales et obtint la même Amibe.

Gauducheau donna les résultats de ses cultures, qui présentaient des variations suivant l'espèce bactérienne associée. Le *Bacterium coli* et le *Bacterium pasteurilla* convenaient bien. Les *Bacteria subtilis* et mésentériens tuaient les Amibes. Les hématies des mammifères étaient facilement ingérées.

La vacuole pulsatile de cette Amibe peut apparaître ou disparaître à volonté. Le noyau est assez variable.

Gauducheau le figura avec une mince membrane chromatique et un assez gros karyosome, tantôt central, tantôt accolé à la paroi, mais la chromatine peut aussi être disséminée.

Les conditions de vie de cette Amibe seraient aux confins du parasitisme et de la vie libre extérieure.

Elle ferait le passage du genre *Wahlkampfia* avec le genre *Entamoeba*, mais elle ne peut pas rester dans ce dernier.

Elle paraît se rapprocher des *Endolimnæx*.

Amibe indéterminée..

Nous citons, dans cette étude, une Amibe découverte par Chatton en 1912 et qui se rapproche du genre *Wahlkampfia*. C'est l'Amibe d'un Singe, qui a un noyau vésiculeux et un karyosome central.

Elle est plus voisine du type *Entamoeba* que de l'ancien type *Limax*. Au bout de quelques jours de culture, elle s'organisa en sporanges caractéristiques du Myxomycète *Dictyostelium mucoroides*.

Le fait que certains Myxomycètes peuvent se cultiver presque indéfiniment à l'état de Myxamibes rend très délicate l'identification des cultures.

Dans son œuvre *Le Monde Vivant*, M. le Professeur Coutière (1) remarque que l'exemple de ces organismes, qui ont une parenté avec les Cryptogames, « est tout à fait propre à montrer l'embaras du biologiste devant ces formes si sommaires de la matière vivante, à la fois très active, au point de devenir des parasites dangereux et dépourvus, en apparence, de tous moyens; si bien qu'elles se ressemblent par l'indigence des détails ».

Amibe qui avait été rangée à tort dans le genre Wahlkampfia.

Alexeïeff, en 1922, découvrit une Amibe : *Amoeba hartmannella*.

Il ne nous semble pas que cette Amibe de l'ancien groupe

(1) COUTIÈRE (Henri) [1930] : *Le Monde Vivant*, Paris.

Limax puisse être conservée dans le genre *Wahlkampfia*, car elle n'a pas de corps polaire dans sa division nucléaire et tout, ou presque tout, son matériel chromatique est employé dans la plaque équatoriale.

Genre *Naegleria* ALEXEIEFF, 1912.

Le genre *Wahlkampfia* était la première division de l'ancien groupe *Limax*.

Le genre *Naegleria* en est la seconde. Les Amibes qu'il renferme ont le même mode de division nucléaire, mais celles du genre *Naegleria* peuvent donner des stades flagellés.

Charles A. Kofoïd, étudiant en 1915 le problème des sols malades, commanda une étude de la faune des Protozoaires de ces sols et de sa relation avec la flore bactérienne.

Les espèces de Protozoaires devaient être déterminées avec soin et l'on devait décrire particulièrement les amibes qui ont un stade flagellé.

C'est le cas de *Naegleria gruberi* de Schardinger.

Naegleria gruberi SCHARDINGER.

Naegleria gruberi est essentiellement un hôte du sol et il apparaît surtout abondant à une profondeur de 4 pouces (0^m10), mais il existe aussi à 20 pieds sous terre (6^m10). Schardinger, qui a créé l'espèce, l'a découverte dans des cultures obtenues en ensemençant des selles humaines dysentériques à Vienne.

L'Amibe avait dû être ingérée avec l'eau ou la nourriture et traverser enkystée l'appareil digestif.

Kofoïd décrivit cette Amibe comme il suit :

Elle mesure de 8 à 30 μ et émet un gros pseudopode arrondi. Son noyau possède un gros karyosome.

C'est à partir de ce karyosome que se forme l'appareil flagellaire. Un filament chromatique traverse le noyau et atteint la périphérie du sarcode où il y a un blépharoplaste marginal ; deux flagelles externes partent de ce blépharoplaste.

***Naegleria craigia* syn. *Wahlkampfia craigia*.**

Craig, en 1918, observa *Wahlkampfia craigia*; c'est une petite Amibe à vie libre ou parasitaire qui a un stade flagellé.

Elle mesure 10 à 25 μ .

A l'état de repos son ectoplasme et son endoplasme sont légèrement différenciés, mais à l'état de mouvement son ectoplasme est très clair.

L'endoplasme a quelquefois un corps intranucléaire (rappelant le *nebenkorper* (corps accessoire des *Paramœba*).

Pendant le stade flagellé, il ne se forme qu'un seul flagelle.

Le noyau serait du type *Naegleria* (*Wahlkampfia*, *Naegleria*) modifié.

***Naegleria macronucleata* CESAR PINTO.**

Cesar Pinto a observé une Amibe de l'ancien groupe *Limax* dans deux cas de dysenterie.

Dans le premier de ces cas, elle accompagnait de nombreuses *Giardia intestinalis* et, dans le second, des Amibes dysentériques.

Pinto la classe dans le genre *Wahlkampfia* de Chatton et Lalung-Bonnaire, mais elle doit être rangée dans le genre *Naegleria* d'Alexeieff, car elle a des stades flagellés.

Cette Amibe est d'assez grande taille, de 14 à 18 μ ; son noyau, dépourvu de membrane colorable, a un diamètre d'environ 4 μ et contient un gros karyosome de 3 μ 2.

***Naegleria tachypodia* syn. *Wahlkampfia tachypodia*.**

Kœthe Pietschmann, en 1929, étudia la formation des éléments flagellés de cette Amibe et sa division nucléaire.

D'après lui, les formes flagellées portent deux à quatre flagelles.

Ceux-ci ont leur origine dans des granules situés à la pointe antérieure du noyau qui a une forme de poire.

L'auteur a assisté à la genèse de ces flagelles. On voit apparaître à la périphérie d'un noyau qui est arrondi au repos deux grains situés côte à côte. Ces grains sourdent peu à peu en

déterminant la forme en poire du noyau et parviennent à la périphérie de l'Amibe. C'est de ces grains que les flagelles prennent naissance.

Ils peuvent être reliés au noyau uniquement par un mince tractus.

La natation des éléments se fait par contraction en boule, puis par étirement du corps.

Les flagelles sont alors dirigées en arrière.

Dans le passage de l'état flagellé à l'état amœboïde, les grains basaux se séparent du noyau, les flagelles ne peuvent pas fonctionner et disparaissent.

Les grains restent dans le plasma, mais souvent on constate leur résorption. En tous les cas, ils ne jouent aucun rôle dans la division nucléaire.

Biologie des genres Wahlkampfla et Naegleria.

Plusieurs auteurs, rencontrant souvent, dans une même selle, des Amibes pathogènes et des Amibes simplement coprophiles, se sont demandés si ce fait n'était pas lié à quelque relation de parenté.

Eugène R. Whitmore s'en posa la question en 1903, en Floride, d'après l'observation qu'il fit chez un individu sain de la présence simultanée d'Amibes simplement coprophiles et d'*Entamœba coli*. Mais les selles examinées n'étaient pas fraîches, et l'auteur ne put pas conclure.

Ernest Lindwood Walker, en 1911, reprenant les travaux que Whitmore avait fait sur des cultures de selles humaines la même année, remarqua, comme lui, que les Amibes de culture étaient d'un type différent de celui des Amibes qui avaient été observées dans les matières fécales d'où on les avait prélevées.

Considérant ces résultats concordants, Walker s'est demandé, comme beaucoup de ses prédécesseurs, si les Amibes de culture de l'ancien groupe *Limax* ne représentaient pas une forme modifiée des *Entamibes*.

Les différences structurales qui séparent ces deux types lui parurent cependant trop considérables et trop constantes pour permettre une pareille hypothèse.

Ces Amibes de l'ancien groupe *Limax* isolées ne seraient donc que des commensaux temporaires.

Walker, qui n'en a jamais observé à l'état végétatif dans les matières fécales, incline même à penser, comme d'autres auteurs, qu'elles proviennent de kystes d'Amibes libres, passés indemnes à travers le tube digestif.

CONCLUSION. — Les Amibes des genres *Wahlkampfia* et *Naegleria* ont un noyau dont le karyosome est excessivement grand et sans chromatine périphérique.

La division de ce noyau est une promitose, avec formation des coiffes polaires. Les kystes de ces amibes ont leur paroi ponctuée de pores. L'ancien groupe *Limax* se subdivise en deux genres :

1° Le genre *Wahlkampfia* pour les Amibes qui ne donnent pas de stade flagellé;

2° Le genre *Naegleria* pour les Amibes à stades flagellés.

Ces Amibes, qui apparaissent communément dans les sols humides et dans les matières végétales en décomposition, sont souvent coprophiles et ne semblent avoir aucun rôle pathogène ni aucune relation avec l'Amibe dysentérique.

Il ne paraît pas non plus possible de les considérer comme une transformation de culture des espèces pathogènes.

Elles passeraient sous forme de kystes dans l'appareil digestif.

Genre *Hartmannella*.

Hartmannella est synonyme d'*Hartmannia* d'Alexeieff (1), 1912, type *hyalina* et non pas d'*Hartmannia* de Newton, 1895.

Le noyau est sphérique avec un grand karyosome et la chromatine est en forme de granulations, soit à la surface de la membrane nucléaire, soit dans l'espace compris entre le karyosome et la membrane.

Pendant la division, le karyosome se désagrège et un fuseau

(1) ALEXEIEFF (A.) [1912] : Sur les caractères cytologiques et la systématique des Amibes du groupe *Limax* (*Naegleria* n. g. et *Hartmannia* n. g.) et des Amibes parasites des vertébrés (*Proctamæba* n. g.). *Bull. Soc. Zool.*, Paris, t. XXXVII, p. 55.

se forme sur lequel des chromosomes viennent s'agencer comme une plaque équatoriale. La membrane nucléaire disparaît habituellement à quelques stades de la division. Les kystes sont de structure sphérique. On distingue les nombreuses espèces appartenant à ce genre par les détails de la division nucléaire et le caractère des kystes.

En résumé, ces Amibes de l'ancien groupe *Limax* n'ont pas de corps polaires dans la division nucléaire, tout ou presque tout le matériel chromatique est employé dans la plaque équatoriale.

Hartmannella glebae.

Cette Amibe est retirée du sol, elle est de petite taille et n'a qu'une vacuole contractile.

Le noyau, au repos, renferme un gros karyosome, formé de granules de chromatine inclus dans une matrice de plastine, entourée d'une zone claire qui le sépare de la très mince membrane nucléaire auquel il est relié par de fins filaments de linine.

La division mitotique comporte une disparition de la membrane.

Hartmannella hyalina DANGEARD, 1900.

Cette Amibe est souvent trouvée dans les selles et on peut l'obtenir en culture sur agar, à partir d'eau souillée et des matières fécales.

Dangeard la nomma *Hartmannella hyalina* en 1900.

Cette Amibe, quand elle est sphérique, a un diamètre de 20 μ . Elle a une vacuole contractile et ressemble énormément à *Hartmannella glebae*, décrite par Dobell en 1914.

Elle ne s'en différencie que par la division de son noyau, qui est constitué d'une membrane nucléaire et d'un grand karyosome central.

Le noyau se différencie de celui d'*Hartmannella glebae* en ce que, pendant le processus de division; le fuseau, qui remplace la membrane disparue, est effilé et pointu, alors que les extrémités de celui d'*Hartmannella glebae* sont arrondies.

Hartmannella hyalina se différencie encore de *Hartmannella glebae* par ses kystes qui ont une paroi interne lisse et une

paroi externe crénelée, tandis que la paroi externe des kystes de *Hartmannella glebae* est lisse.

Ces deux espèces : *Hartmannella glebae* et *Hartmannella hyalina* sont coprophiles, bien définies et communes.

Hartmannella pigerrina E. WOOLF, 1927.

Etienne Woolf, en 1927, a étudié une petite Amibe d'eau douce, *Hartmannella pigerrina*, dont la division s'effectue en une succession de stades dont les durées sont proportionnelles entre elles.

Il a remarqué qu'avant la division du cytoplasme il y avait accélération, puis disparition de la vacuole pulsatile, et que ce comportement de la vacuole était en rapport direct avec les durées des temps de la division. La disparition de la vacuole est à l'origine des stades. Lorsque l'Amibe va s'enkyster, le sarcode subit une déshydratation.

Ceci est un fait corrélatif d'expériences et l'auteur montre qu'une déshydratation bien conduite provoque l'enkystement même sur un milieu nutritif abondant.

CONCLUSION. — Les Amibes du genre *Harmanella* qui avaient été classées dans le genre *Wahlkampfia* ne semblent pas pouvoir y être conservées, car elles n'ont pas de corps polaires dans leur division nucléaire.

Tout ou presque tout le matériel chromatique est employé dans la plaque équatoriale.

Les Amibes *Hartmannella* doivent former un genre à part.

Ce sont des Amibes coprophiles, mais non parasites. On les obtient facilement en culture.

Genre *Sappinia* DANGEARD, 1896.

Dangeard découvrit et créa ce genre en 1896 en étudiant la forme *Sappinia pedata*.

Ces Amibes (dont beaucoup d'auteurs font des Myxomycètes) sont caractérisées par deux noyaux étroitement appliqués l'un à l'autre.

Sappinia pedata DANGEARD, 1896.

Les Amibes de cette espèce sont libres et ont deux noyaux caractéristiques.

Leurs kystes sont particuliers en ce qu'ils ont un pédoncule pour s'attacher aux objets.

Sappinia diploidea HARTMANN ET PROWAZEK, 1907.

Cette espèce fut découverte par Hartmann et Prowazek en 1907, en même temps qu'*Amœba lacertae* dans des cultures faites sur agar avec le contenu rectal d'un Lézard. Selon Dobell et O'Connor (1921) [1], elle apparaît rarement dans les matières fécales humaines, mais assez communément dans celles des animaux (Bœuf et Lézard).

Hartmann et Nägler, en 1908, lui donnèrent le nom d'*Amœba diploidea* et Alexeieff, en 1912, la plaça dans le genre *Sappinia* de Dangeard.

Cette Amibe a une taille de 10 à 30 μ , possède une vacuole contractile et a une pellicule épaisse, caractéristique qui est quelquefois crénelée.

Elle se reconnaît aisément à la présence de ses deux noyaux aplatis l'un contre l'autre.

D'après Hartmann et Nägler, ils ont un gros karyosome central, des chromosomes et de la chromatine dans l'espace nucléaire.

Ces Amibes se multiplient par division binaire, les deux noyaux se divisent et produisent deux fuseaux parallèles.

Ce mode de division s'appelle la mitose.

Les individus filles ont aussi deux noyaux.

Quand il y a enkystement deux individus s'enferment dans un kyste commun et, dans chacun, les deux noyaux se fusionnent en un syncarion.

Puis, les deux Amibes elles-mêmes se fusionnent et les deux syncarions effectuent chacun deux divisions de maturation.

(1) DOBELL (C.) et O'CONNOR (F. W.) [1921] : The intestinal Protozoa of man, London.

Si le kyste est transporté sur un milieu nutritif frais, il en sort une Amibe possédant deux noyaux qui, d'après la description précédente, proviennent d'individus différents.

Cette Amibe se divisera une série de fois jusqu'à la copulation suivante sans qu'il y ait fusion des deux noyaux.

CONCLUSION. — Le genre *Sappinia* est caractérisé par la présence de deux noyaux aplatis l'un contre l'autre et qui, pendant la scissiparité, se divisent à la fois.

Quand l'enkystement a lieu, deux Amibes, chacune avec deux noyaux, s'enferment dans un kyste commun.

Ces Amibes se rencontrent rarement dans les selles humaines.

TROISIÈME PARTIE

INFUSOIRES

Généralités. — Les Infusoires sont les Protozoaires les plus élevés en organisation. Ils ont une forme définie et sont pourvus de cils vibratiles ou de tentacules. Ils possèdent une cuticule, un ectoplasme et un endoplasme distincts, des fibres contractiles, une bouche, un rudiment d'œsophage et un anus, un noyau renfermant des nucléoles et une ou plusieurs vacuoles contractiles.

Ils vivent généralement dans l'eau et se reproduisent par scissiparité et par conjugaison.

Les Infusoires se subdivisent en Ciliés qui présentent des cils vibratiles et en Acinétiens ou Tentaculifères, munis de tentacules ou suçoirs.

Les rares Infusoires parasites appartenant uniquement à la classe des Ciliés, nous n'étudierons que les Ciliés coprophiles.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DES PRINCIPAUX CILIÉS COPROPHILES DE L'HOMME

Les Ciliés sont des Infusoires caractérisés par la présence de cils vibratiles.

Suivant la disposition de ces cils, on les divise en plusieurs groupes, dont trois intéressent la parasitologie humaine : 1° les Hétérotriches ; 2° les Holotriches ; 3° les Pérित्रiches.

1° Les Hétérotriches ont des cils oraux plus grands que ceux

qui sont sur le reste du corps. Ces cils sont fréquemment soudés entre eux et constituent des membranelles.

2° Les Holotriches ont des cils à peu près semblables et répartis uniformément sur tout le corps, sans présenter de différenciation autour de la bouche.

3° Les Pérित्रiches ont des cils dans la zone adorale seulement.

• Genre *Balantidium*.

Le genre *Balantidium*, créé par Stein en 1862, fait partie de la famille des *Bursaridæ*.

Il est caractérisé par un corps ovale ou fusiforme, subcylindrique, légèrement tronqué en avant.

Le péristome est un peu excavé, droit, plus ou moins triangulaire.

Le bord gauche seul porte de longs cils adoraux. Le pharynx est absent ou rudimentaire. Les vacuoles contractiles sont habituellement nombreuses.

Balantidium giganteum KRAUSSE, 1906.

Syn. Nyctoterus giganteus BRAUN, 1908.

Krausse découvrit, en 1905, dans les selles d'un typhique un Cilié ovoïde mesurant de 90 à 400 μ de long sur 60 à 250 μ de large, il put le cultiver quelques jours.

Les cils seraient disposés sans ordre régulier et la cuticule ne serait pas striée. Ce Cilié a une ou deux vacuoles contractiles, un macronucléus sphérique et un micronucléus. Le kyste est sphérique.

La description de Krausse ne permet pas d'établir facilement l'identité de cet Infusoire.

C'est peut-être une variété de grande taille du *coli*.

Krausse l'avait appelé *Balantidium coli giganteum*.

Balantidium minutum SCHAUDINN, 1899.

Cette espèce est un Protozoaire du sol. Schaudinn en donne la description suivante :

Corps ovale ou quelque peu piriforme ayant de 20 à 30 μ de long et 14 à 20 μ de large. L'extrémité antérieure, un peu effilée, paraît légèrement tronquée et courbée d'un côté.

L'extrémité postérieure est grosse et arrondie. Les cils du corps sont longs et fins. L'appareil adoral est plus fortement développé que chez *Balantidium coli*, il se compose d'un repli péritonéal s'étendant de l'extrémité antérieure jusqu'à l'équateur ou plus loin encore et se termine en un court pharynx qui plonge dans l'endoplasme.

Les parois buccales sont bordées de longs cils vibratiles, une

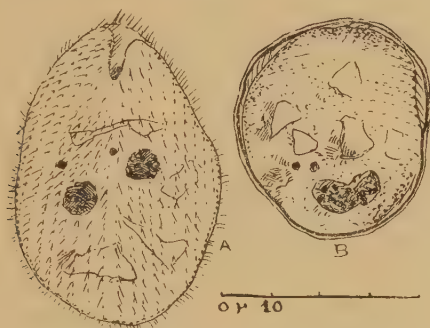


FIG. 6. — *Balantidium coli*, provenant de selles humaines.
Coloration par l'hémalun-éosine.

A, forme végétative; B, forme enkystée.

seule vacuole contractile, située à l'arrière du corps, dans la région dorsale, du côté gauche.

Le macronucléus est sphérique, mesurant 6 à 7 μ de diamètre, il est placé au centre du corps, entouré d'une membrane nucléaire et il contient des granules chromatiques irréguliers disposés comme les nœuds d'un filet.

Le micronucléus est sphérique, il mesure environ 1 μ de diamètre et est situé vis-à-vis du macronucléus.

La multiplication se fait par division transversale. La conjugaison n'a pas été observée.

Les kystes ne sont pas sphériques, mais ovales. L'enkystement se fait suivant le mode habituel.

Schaudinn conclut que cette espèce n'a pas de rôle pathogène, après l'avoir observée deux fois; l'une avec Jakoby, chez un

cuisinier de la marine revenant d'Amérique et souffrant d'entérite. Le malade présentait en même temps une infection à *Nyctoterus faba*.

L'autre cas, très douteux, est de Schultz.

Un peu plus tard, en 1903, Brooks (1) affirme qu'un Dr Russel aurait trouvé *Balantidium minutum* à Porto-Rico, mais on ne trouve aucune relation de ce cas.

En 1917, Sangiorgi et Ugdulena (2) décrivent un Cilié dont ils font une variété *italicum* du *Balantidium minutum*.

Cet Infusoire mesurant de 28 à 36 μ de long sur 11 à 26 μ de large diffère du type *Balantidium minutum* par la position excentrique de l'appareil nucléaire et par la situation du micronucléus par rapport au macronucléus. Au lieu d'être toujours en avant, il est chez *Balantidium minutum*, variété *italicum*, tantôt en avant, tantôt en arrière, tantôt latéral.

Par sa description et sa possibilité de culture en eau peptonée, ce Cilié ne semble pas appartenir au genre *Balantidium*.

Le professeur Brumpt, en 1922, a suggéré que ce Cilié était probablement un organisme coprophile.

En 1918, A. Senez décrit un *Balantidium* qu'il pense être identique à *Balantidium minutum* de Schaudinn, dans une coproculture. Il mesurait 25 à 35 μ de long.

CONCLUSION. — Le bord gauche des Ciliés du genre *Balantidium* porte de longs cils adoraux. Ce genre où l'on rencontre, outre le *Balantidium coli*, des parasites de Mammifères, de Batraciens, de Mollusques et de Vers, n'a guère que deux espèces coprophiles de l'Homme, le *Balantidium giganteum* et le *Balantidium minutum* qui ne sont probablement pas parasites.

Genre Colpoda O. F. MULLER, 1873.

Le genre *Colpoda*, créé par O. F. Muller en 1873, fait partie de la famille des *Chiliferinæ*. Il est caractérisé par un corps ovale ou réniforme, plus ou moins comprimé. La bouche est

(1) BROOKS (H.) [1903]: A few animal parasites sometimes found in man. Proc. New York Path. Soc. (N. S.), III, 28.

(2) SANGIORGI (G.) et UGDULENA (G.) [1917]: Ciliati nell' intestino Umano. Pathologica, IX, I.

située vers le milieu du bord concave, elle est continuée par un pharynx cilié s'avancant loin de l'endoplasme. Le bord gauche du péristome est seul garni de cils adoraux. L'anus est permanent et prolongé par un court tube rectal. La vacuole pulsatile est subterminale. On connaît plusieurs espèces de Ciliés appartenant à ce genre.

Ce sont des organismes très communs dans les eaux stagnantes et dans la terre humide; il n'est pas surprenant que la matière fécale, recueillie dans des vases qui ne sont pas stériles, puisse en être contaminée.

Comme la majorité des Ciliés, ils ne se reproduisent que



FIG. 7. — *Colpoda* Sp., obtenu par l'ensemencement sur infusion de paille gélosée (stérilisée) au moyen de l'eau d'un baril à eau distillée. Coloration à l'hématoxyline au fer.

pendant leur période d'enkystement. Les kystes mesurent de 12 à 32 μ de diamètre.

Colpoda cucullus EHRENBURG.

Cet Infusoire rencontré par Schulz, associé à des *Lamblia* et à des *Cercomonas*, et que Schaudinn identifia, n'est très probablement pas parasite de l'appareil digestif. Les matières examinées avaient été vraisemblablement contaminées par lui, car ce Cilié est extrêmement commun dans la nature. Il est préférable d'attendre de nouvelles observations pour le ranger parmi les Infusoires parasites.

Enriques (1), en 1908, lui attribua une longueur de 40 à

(1) ENRIQUES (P.) [1908] : Sulla morfologia Sistematica del genere *Colpoda*. *Arch. Zool. Exp.*, VIII, (N et R), i.

100 μ avec 9 à 10 lobes dans la région frontale. Et un macronucléus sphérique possédant un karyosome lobé.

Voici, d'après S. Kent, sa description : corps sub-réniforme, une fois et demie plus long que large, arrondi et plus gros postérieurement, pointu antérieurement et recourbé du côté ventral.

Cils de la région orale formant une sorte de houppe, sortant de la fossette buccale. Les cils, du reste de la surface du corps, plus courts, ne sont facilement visibles que vers l'extrémité antérieure du corps.

Noyau sphérique, sub-central. Vésicule contractile de grande taille à l'extrémité postérieure. Longueur du corps, 85 à 100 μ .

Colpoda cucullus est le Cilié le plus universellement répandu parmi les Protozoaires du sol. Il se trouve parfois au nombre d'un millier par gramme de terre.

Colpoda cucullus ne semble être actif que lorsque l'humidité du sol est beaucoup au-dessus de la normale (James M. Sherimann, 1916).

D'après Joseph Wall Bodine, la résistance des kystes de *Colpoda cucullus* à la température et aux agents chimiques dépend de leurs degrés de dessiccation.

Plus celui-ci est grand et plus la résistance est grande. C'est ainsi qu'un Colpode enkysté peut résister à vingt minutes d'ébullition dans l'alcool absolu.

Jean François Perey croit, d'après les expériences faites en 1924, que l'influence de la lumière solaire diminue considérablement le nombre des formes actives et augmente celui des kystes.

Colpoda maupasi.

Infusoire de 35 à 70 μ de long, ayant 6 à 7 lobes dans la région frontale et un macronucléus sphérique qui ressemble à celui de *Colpoda cucullus*.

Colpoda steini MAUPAS.

En 1908, Enriques attribua à cet Infusoire une taille de 23 à 48 μ de long, 6 à 7 lobes dans la région frontale et un macronucleus allongé avec un karyosome sphérique ou ovoïde.

Yakimoff et Kolpakoff rencontrèrent *Colpoda steini* associé

à d'autres Protozoaires en examinant des selles à Pétrograde.

Il semble difficile de retenir cette espèce comme parasite avant d'avoir des documents plus précis à son sujet.

Colpoda steini est un Protozoaire du sol. Yakimoff en a donné la description suivante :

Forme de haricot, face ventrale concave, face dorsale convexe. Le corps est revêtu de cils fins, la bouche s'ouvre au milieu de la face ventrale sous forme d'une fente étroite se prolongeant par le cytopharynx.

Ce péristome est bordé de cils plus longs et plus forts que ceux de la surface du corps.

Au-dessus du péristome, sur la face ventrale, existe 6 ou 7 dentelures arrondies. Pas d'orifice anal visible.

Macronucléus en fer à cheval situé au-dessous du cystotome pourvu d'un gros karyosome central.

Micronucléus punctiforme, au-dessus du macronucléus.

Une vacuole dans la partie postérieure du corps.

CONCLUSION. — Les espèces de ce genre ont un corps plus ou moins comprimé et la bouche située vers le milieu du bord concave. Ces organismes sont très communs dans la nature. Les espèces *Colpoda cucullus*, *Colpoda maupasi* et *Colpoda steini* se rencontrent dans les selles, mais ne semblent pas parasites de l'intestin humain.

Genre Uronema DUJARDIN, 1841:

Le savant rennais Dujardin (1) créa ce genre en 1841 et le décrit comme il suit : corps ovalaire légèrement comprimé, convexe sur la face dorsale, concave sur la face ventrale qui porte la bouche.

Bouche munie d'une sorte de membrane ondulante. Un ou plusieurs longs cils caudaux.

(1) DUJARDIN, (F.) [1841]: Histoire naturelle des Zoophytes, Infusoires. Paris.

Uronema caudatum.

Cette espèce a été découverte à Tsing-tao (Chine) en 1910, par Martini, dans les selles de trois dysentériques. Il s'agissait de Ciliés de forme ovoïde mesurant 30 à 43 μ de large.

La face supérieure ou dorsale convexe présentant surtout

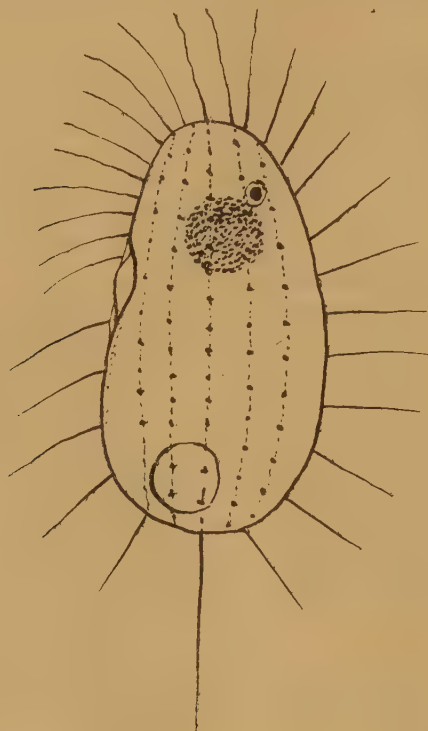


FIG. 8. — *Uronema*, d'après Wenyon.

chez les exemplaires conservés trois stries accentuées, séparant des dépressions nettes.

Orifice buccal à l'extrémité antérieure entouré d'un péri-stome allongé, nettement excavé. Le corps est garni de cils assez longs (10 μ), peu serrés.

De la face dorsale, de l'extrémité postérieure, part un filament caudal ou soie tractile, raide, situé dans l'axe du corps ou obliquement, mesurant 20 μ de long.

Macronucleus sphérique, avec, à côté, un petit *miconucleus*, une vacuole contractile, à l'arrière, près de la face dorsale. Pas d'orifice anal visible.

Fischer, en 1914, crut confirmer les observations de Martini, mais il ne donne ni description, ni figure.

D'après Dobell, cet Infusoire, que Martini put conserver une semaine en culture dans l'eau physiologique mêlée de mucus intestinal, n'est pas un *Uronema*, mais un *Cyclidium*, genre dont les espèces sont extrêmement fréquentes dans la nature.

Yakimoff a prétendu avoir rencontré quatre fois *Uronema caudatum* à Pétrograde et il l'a dessiné, mais ni ses figures ni ses descriptions ne concordent avec celles de Martini.

Il a trouvé ces types dans des coprocultures au bout de plusieurs jours. Aussi est-il probable qu'il ne s'agissait pas de parasitisme.

CONCLUSION. — Les Ciliés de ce genre ont la bouche située sur la face concave du corps et cette bouche est munie d'une sorte de membrane ondulante. *Uronema caudatum* ne semble pas être parasite de l'intestin de l'Homme.

Genre *Chilodon* EHRENBURG.

Le genre *Chilodon* fait partie de la famille des *Chlamyodon-tinæ*, de l'ordre des *Holotriches*.

Infusoires assez flexibles, corps sub-ovalaire, à partie antérieure lamelleuse comme une lèvre; face dorsale convexe, face ventrale plate, entièrement ciliée; ouverture buccale s'ouvrant sur la face ventrale et suivie d'un pharynx. Anus postéro-terminal.

Chilodon dentatus EHRENBURG, 1883.

Syn. : *Loxodes dentatus* DUJARDIN, 1841.

Chilodon dentatus FROMENTEL, 1874.

Chilodon curvidentis GRUBER.

Chilodon mucinatus BLOCHMANN, 1897.

Ehrenberg fut le premier à mentionner ces Ciliés, il en a vu certaines formes dans les selles dysentériques ou diarrhéiques

des êtres humains, mais il ne lui a pas semblé évident qu'il se présente dans l'intestin de l'Homme. Il croit qu'il passe à travers l'intestin de l'Homme à l'état de kyste.

J. Guiart (1) avait d'abord décrit cet Infusoire comme un parasite de l'intestin, car il l'avait trouvé à Paris dans les selles dysentériques d'une Femme.

Mais ce parasitisme fut ensuite mis en doute par Guiart lui-même. Vu les circonstances de l'observation, il pencherait plutôt à en faire un Infusoire coprophile, ingéré et expulsé sous forme de kystes qui se développeraient ensuite en culture.

En 1909, P. Manson et Sambon (2) relatèrent l'observation d'un cas de pseudoparasitisme intestinal par *Chilodon uncinatus* (Blochmann, 1897).

Or, cette espèce est synonyme de *Chilodon dentatus* (Ehrenberg).

Et ici encore, comme dans le cas de Guiart, il s'agit certainement d'Infusoires libres ingérés accidentellement, puis, ayant traversé l'appareil digestif sous forme de kystes, qui lors de la coproculture se multiplièrent rapidement.

Guiart décrivit *Chilodon dentatus* (Ehrenberg) comme il suit :

Corps de forme ovale, long de 38 à 55 μ , sur 25 à 35 μ de large. Face ventrale aplatie, tandis que la face dorsale est fortement convexe. Présente en avant un prolongement membraneux, très flexible, incurvé sur le côté gauche et portant à sa face inférieure plusieurs rangées de cils. L'endoplasme très granuleux occupe toute la région dorsale bombée, l'ectoplasme se trouvant limité à une mince couche périphérique et constituant seul toute la région lamelleuse antérieure, très contractile.

La face ventrale semble posséder des lignes longitudinales de cils très courts et très fins.

La face dorsale paraît nue. La bouche se trouve normalement à la partie antérieure de la région endoplasmique et rejetée un peu vers la gauche.

Contractée et peu visible à l'état normal, elle se continue

(1) GUIART (J.) [1903] : Sur un nouvel infusoire parasite de l'homme. *C. R. Soc. Biol.*, LV, 245.

(2) MANSON et SAMBON (L. W.) [1909] : A case of intestinal pseudo-parasitism due to *Chilodon uncinatus* (Blochman). *Lancet*, I. 832.

dans l'endoplasme par une masse pharyngienne qui se dirige dorsalement, puis, c'est là un caractère important, se recourbe ventralement pour former un cercle presque complet.

A l'arrière du corps, un volumineux noyau, arrondi, auquel est accolé un nucléole.

Il existe deux vacuoles contractiles, l'une à gauche du noyau, l'autre à droite de la bouche.

Chilodon dentatus est un Protozoaire du sol. Parfois aussi il infeste la peau des poissons. Il ne la pénètre pas, mais il peut se trouver en si grand nombre sur les branchies que la respiration de l'animal parasité en est gênée.

CONCLUSION. — La partie antérieure de ces Infusoires est lamelleuse. *Chilodon dentatus* est un Protozoaire du sol et un parasite de la peau des poissons, mais ne semble pas parasite de l'intestin de l'Homme.

Genre *Nychtoterus* LEIDY, 1849.

Le genre *Nychtoterus* fait partie de la famille des *Phagioto-midæ*.

Corps ovale ou réniforme plus ou moins comprimé. Bouche



FIG. 9. — *Nychtoterus faba*, d'après Schaudinn.

vers le milieu du bord concave, continuée par un pharynx cilié s'avancant loin dans l'endoplasme.

Le bord gauche du péristome seul est garni de cils adoraux. Anus permanent, prolongé par un court tube rectal. Vacuole pulsatile subterminale.

Nyctoterus faba SCHAUDINN, 1899.

Réniforme, cet Infusoire mesure 26 à 28 μ de long sur 16 à 17 μ de large.

De l'extrémité antérieure jusqu'au milieu du bord concave, s'ouvre le péristome qui se continue vers l'intérieur du corps en un étroit et court pharynx, obliquement dirigé vers l'arrière.

L'extrémité postérieure arrondie présente sur son côté dorsal, l'anūs, qui est l'orifice d'un court canal anal.

Tout le corps est recouvert de cils fins et courts; le péristome qui présente des cils adoraux plus longs et plus forts, se prolongeant dans le pharynx.

Macronucleus sphérique mesurant 6 à 7 μ de diamètre; sa caractéristique principale est le groupement de ces corpuscules chromatiques en quatre ou cinq masses distinctes.

Contre lui, un *miconucleus* sphérique de 1 μ à 1 μ 5 de diamètre. Une seule vacuole contractile siégeant à l'extrémité postérieure du corps en connexion avec l'anūs, par l'intermédiaire du canal anal.

Ni la conjugaison, ni la division n'ont été observées. Il se forme des kystes ovoïdes que seule la structure du noyau permet de distinguer de ceux du *Balantidium minutum*.

G. San Giorgi et G. Ugdulena, 1917, auraient obtenu cet Infusoire à partir des selles humaines. Schaudinn le rencontra une fois dans l'intestin d'un Homme associé au *Balantidium minutum* sans que son rôle pathogène ait pu être démontré.

C. Pinto prétend l'avoir observé une fois au Brésil, mais comme il ne donne aucun détail morphologique on ne peut affirmer l'authenticité de ce cas.

Nyctoterus africanus CASTELLANI, 1905 (1).

Cette espèce est encore douteuse et il est fort probable qu'il

(1) CASTELLANI (Aldo) [1905] : Observations on some Protozoa found in human faeces. *Centralbl. Bakt.*, I. Abt., XXXVIII, 66.

ne s'agit pas là, à en juger par la description et la figure de l'auteur, d'un *Nyctoterus*; tel est l'avis de protistologistes tels que Mesnil et Dobell. Le corps, vaguement en forme de sablier, mesure 40 à 50 μ de long sur 35 à 40 μ de large. Il est entièrement couvert de cils fins et serrés, plus longs sur l'extrémité postérieure.

Il y aurait dans cette zone postérieure un court péristome (non visible sur la figure de Castellani).

L'endoplasme est rempli de fines granulations. Le *macronucleus*, gros et arrondi, présente quatre masses périphériques de chromatine.

C'est cette structure analogue à celle qu'on voit chez les *Nyctoterus* qui a incité Castellani à mettre son Infusoire dans ce genre.

Micronucleus, petit, situé près d'un *macronucleus*.

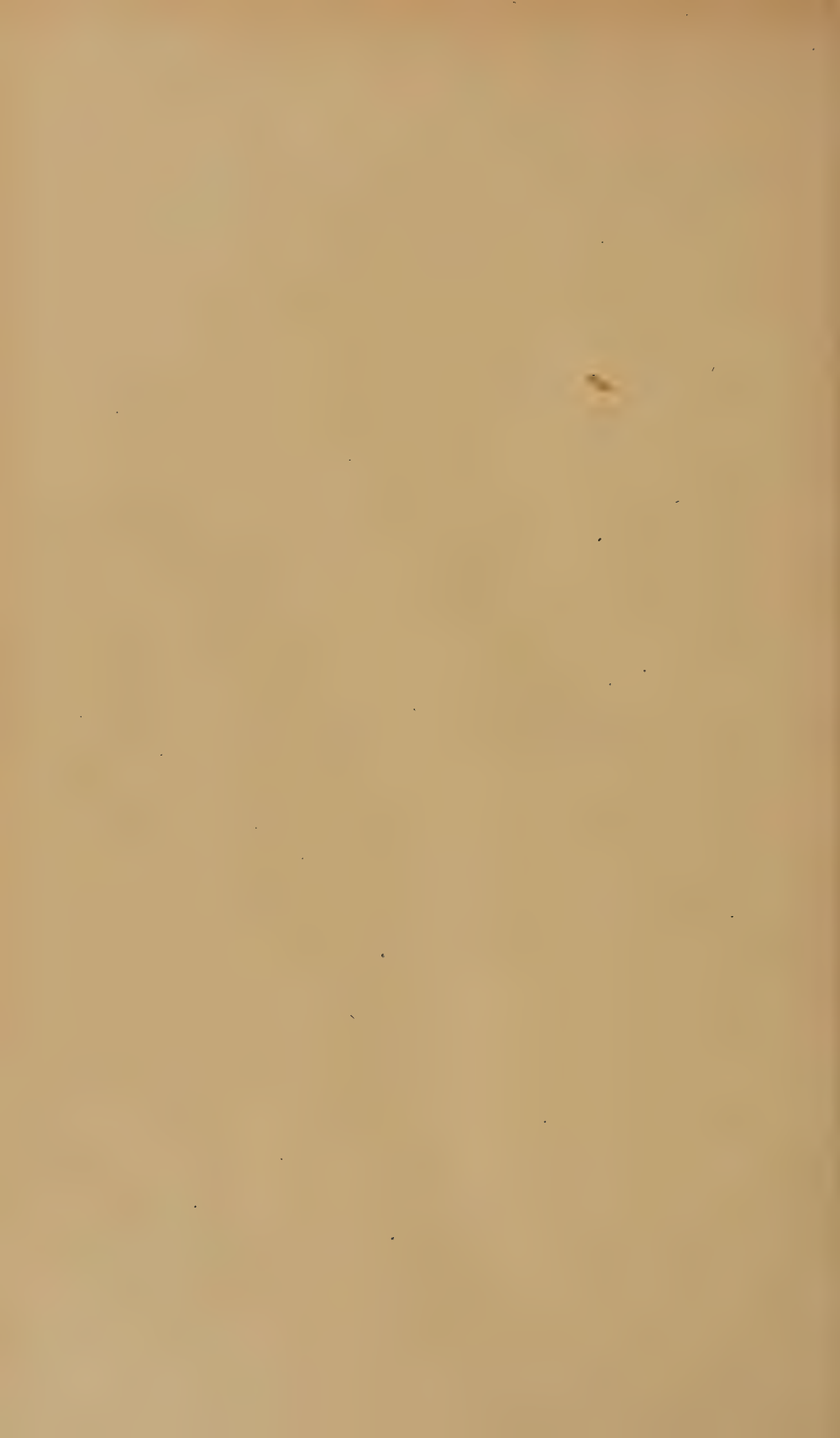
Une grosse vacuole contractile, non loin du noyau.

Ni la division, ni la conjugaison n'ont pu être observées non plus que l'enkystement.

Castellani a trouvé cet Infusoire une fois chez un indigène Baganda atteint de maladie du sommeil.

Le patient présentait des troubles intestinaux, mais étant donné la présence d'Helminthes variés dans son intestin on ne peut conclure au rôle pathogène de ce Protozoaire.

CONCLUSION. — Les Ciliés du genre *Nyctoterus* ont un péristome dont le bord gauche est garni de cils adoraux. *Nyctoterus faba* ainsi que *Nyctoterus africanus* seraient des espèces coprophiles de l'Homme, mais le Cilié connu sous le nom de *Nyctoterus africanus* n'appartient sans doute pas à ce genre.



QUATRIÈME PARTIE

FLAGELLÉS

Généralités — L'embranchement des Flagellés est immense ; voici la définition qu'en donne M. le Professeur Coutière (1) :

« Ce sont tous ceux (tous les Protozoaires) qui possèdent, comme appareil locomoteur, un ou plusieurs flagelles. On nomme flagelle ou fouet un long appendice grêle qui se visse dans l'eau ou les liquides ambiants par un mouvement d'hélice et qui tire ou pousse l'animal suivant le cas.

« Il est bien autrement volumineux qu'un cil et rappelle assez bien la longue queue de la plupart des Spermatozoïdes d'animaux (ou des Anthérozoïdes, des végétaux inférieurs).

« Un tel flagelle paraît souvent en rapport avec le noyau, mais il est douteux que cette jonction soit réelle ; il existe tout un ensemble de grains spéciaux, colorables comme le noyau, qui paraissent animer spécialement l'appareil flagellaire et n'ont guère d'équivalent chez les autres Protistes.

« C'est comme un second noyau qui présiderait à la vie sensorielle et mécanique du Flagellé, alors que le premier serait voué aux besognes ordinaires de la nutrition. »

(1) COUTIÈRE (Henri) : *Le Monde Vivant*, (Paris) 1930.

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DES PRINCIPAUX FLAGELLÉS COPROPHILES DE L'HOMME

Les principaux Flagellés coprophiles appartiennent aux genres : *Bodo*, *Cercomonas*, *Helkesimastix*, *Copromonas*.

Genre *Bodo*.

Le genre *Bodo*, originairement proposé par Ehrenberg, a souvent été un problème pour les protozoologistes. Mais comme résultat du travail de Klebs 1892, Stils 1902, Alexeieff 1911-1912, Kühne 1915, et d'autres, on peut maintenant le considérer comme définitivement établi.

Voici les caractères distinctifs qu'en donnent Dobell et O'Connor.

Ces organismes sont plus ou moins allongés, ovales et possèdent deux flagelles s'élevant tous les deux à l'extrémité antérieure, l'un est dirigé en avant, l'autre est recourbé en arrière.

Il existe vers le milieu du corps un noyau vésiculaire avec un grand karyosome central.

A l'extrémité antérieure se montre une petite bouche permanente et puis une petite vacuole contractile. En outre il y a, à la partie antérieure du corps, un corpuscule visible et profondément colorable, qui est étroitement associé avec les racines des flagelles. On nomme habituellement ce corpuscule kinetonucléus. Il est semblable à celui des Trypanosomes, qui porte le même nom ou bien encore celui de Blépharoplaste des auteurs allemands malgré l'impropriété de ce dernier terme.

Le corpuscule ne serait pas un noyau mais seulement un corpuscule semblable à celui que l'on retrouve dans les autres Flagellés, et auxquels Janiki (1911) a donné le nom de parabasaux. Dobell et O'Connor adoptent le nom de kinéto-blaste proposé par Alexeieff en 1917.

Toutes les espèces de *Bodo* se multiplient par simple division longitudinale et forment des kystes ovales contenant un seul individu (en principe).

Bodo caudatus, DUJARDIN, STEIN, 1878.

Syn. : *Amphimonas caudata* DUJARDIN, 1841.

Bodo urinarius HASSALL, 1859.

Diplomastix caudata KENT, 1881.

Bodo asiaticus CASTELLANI et CHALMEN, 1910.

Prowazekia cruzi HARTMANN et CHAGAS, 1910.

Prowazekia veinbergi MATHIS et LÉGER, 1910.

Prowazekia asiatica CASTELLANI et CHALMEN, 1911.

Prowazekia javaneusis Flu, WHITMORE, 1912.

Prowazekia urinaria Hassall SINTON, 1912.

Prowazekia italica SANGIORGI et UGDULENA, 1916.

Bodo caudatus est le plus commun de tous les Flagellés coprophiles trouvés dans les selles humaines. Il existe aussi très fréquemment dans les infusions organiques de toute espèce.

Hassall (1), en 1859, nomma *Bodo urinarius* un organisme qu'il découvrit dans l'urine humaine et qui, selon un compte rendu de Sinton (2) en 1912, appartient presque certainement à cette espèce. La liste des synonymes probables de *Bodo caudatus* est longue.

Tout chercheur qui l'a étudié semble lui avoir donné un nom nouveau. Cependant, beaucoup de comptes rendus publiés ne sont pas suffisamment précis pour permettre d'identifier avec une absolue certitude les organismes qu'ils décrivent.

Bodo caudatus montre les traits suivants : d'après Dobell et O'Connor, flagelles mobiles et polymorphes pouvant être longs et fins ou d'une forme large et ovale. Leur forme est variée, mais ils ont rarement plus de 18 μ de long.

Généralement sur les préparations, lorsqu'ils sont fixés et colorés, ils ont un aspect beaucoup plus court et plus globuleux que quand ils vivent.

(1) HASSALL (A. H.) [1859] : On the development and signification of *Vibrio lineola*, *Bodo urinarius* and on certain fungoid and other organic productions generated in alkaline and albuminous urine. *Lancet*, II, 503.

(2) SINTON (J. A.) [1912] : Some observations on the morphology and biology of *Prowazekia urinaria* (*Bodo urinarius* Hassall). *Ann. Trop. Med. et Parasit.*, VI, 245.

Le corps est habituellement pointu postérieurement pendant la vie et il est comprimé latéralement de sorte que sa forme générale est lancéolée et en forme de feuille. Elle est habituellement plus large à la partie antérieure. A l'extrémité antérieure, il y a une petite structure en forme de bec qui se projette légèrement au-dessus de l'ouverture de la petite bouche. La vacuole contractile est menue et repose dorsalement sur la bouche.

Les vacuoles alimentaires, contenant des Bactéries ingérées,

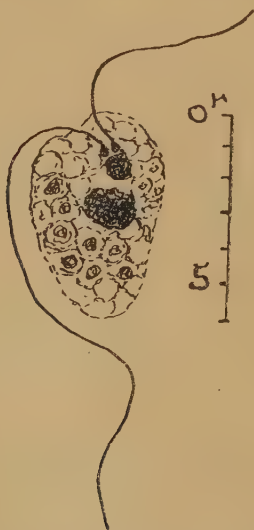


FIG. 10. — *Bodo* Sp. Coloration à l'hématoxyline au fer. Culture obtenue par l'ensemencement sur infusion de paille gélosée de l'eau de robinet (eau de Seine).

se voient dans le sarcode, principalement vers l'extrémité postérieure du corps.

Le noyau est plus ou moins central et sa structure est typique.

Le kinétoplaste est ovale et repose à l'extrémité antérieure, en arrière de la bouche et dorsalement. Les deux flagelles sont d'inégale longueur. Le flagelle antérieur, dirigé en avant, est à peu près de la même longueur que le corps, tandis que l'autre, dirigé en arrière, est beaucoup plus long, souvent deux fois plus.

Les flagelles naissent d'une paire de fins blépharoplastes, situés près de l'extrémité antérieure du kinétoplaste et reposent côte à côte.

Le flagellum arrière est souvent adhérent à l'extrémité antérieure du corps.

Les kystes de cette espèce sont de petites structures ovales, avec des parois fines. •

Ils mesurent 5 à 7 μ de long et contiennent, en principe, un seul noyau et un seul kinétoplaste. Quand ils viennent d'être formés on peut habituellement distinguer les restes des deux flagelles à leur intérieur. Occasionnellement, le noyau et le kinétoplaste se divisent, de sorte que ces deux structures apparaissent de pair à l'intérieur du kyste.

Il y a aussi généralement de petites granulations profondément colorables, parfois en grande abondance.

Bodo caudatus est facilement cultivable dans beaucoup de milieux liquides (infusion de foin) ou sur des assiettes d'agar, comme toutes les autres espèces de cette catégorie.

Il semble être un organisme strictement aérobie.

Il peut aussi vivre longtemps en culture à 37° C. Ces deux faits semblent prouver qu'il ne peut pas vivre dans le corps humain.

En conséquence, il semble à Dobell et O'Connor que certaines communications faites sur ce Protiste, ou d'autres espèces du même genre, trouvées comme parasites de l'Homme, concernaient plutôt des formes anormales.

Des formes amœboïdes se présentent quelquefois dans les vieilles cultures.

Bodo aquæ. Syn.: *Prowazekia aquæ* J. W. S. MACFIE, 1917.

J. W. S. Macfie (1), en 1917, a constaté à Accra que le col des bouteilles d'eau physiologique ou d'eau distillée portait au contact du bouchon de verre des Flagellés qui ont tous les caractères des *Prowazekia* et pour lesquels il a créé l'espèce *Prowazekia aquæ*, probablement voisine de *Prowazekia parva* de Nägler, mais en différant surtout par ses dimensions plus grandes.

Parmi les détails cytologiques, il faut noter que le blépharoplaste est plus petit que le noyau (ce qui ne concorde pas avec le *Prowazekia* isolé de l'eau par Chatterjje) et qu'on peut observer au voisinage de ce blépharoplaste deux petits grains d'où partent les deux flagelles.

Bodo edax KLEBS, 1892.

Bodo edax apparaît parfois dans les selles humaines, mais il y est bien moins commun que *Bodo caudatus*. Dobell et O'Connor l'en distinguent par les caractères suivants :

Bodo edax, quand il est vivant, est légèrement plus petit que *Bodo caudatus*. Il mesure 6 à 14 μ de long et sa forme est plus régulièrement ovale.

En principe, le corps n'est pas comprimé latéralement et bombe sur la face dorsale (aborale). Les flagelles sont approximativement égaux en longueur, bien que le postérieur soit quelquefois légèrement le plus long. Mais ils sont tous les deux beaucoup plus longs que le corps.

Le kinétoplaste est massif et souvent presque sphérique. Le bec est visible.

Par beaucoup d'autres caractères, *Bodo edax* ressemble étroitement à *Bodo caudatus*. Les kystes sont tout à fait semblables. Ces espèces ont été bien redécrites par Kühne en 1915.

On peut noter que quelques-uns des noms donnés comme synonymes de *Bodo caudatus* appartiennent sans doute en réalité à *Bodo edax*.

Par exemple, l'organisme nommé *Prowazekia cruzi*, par Hartmann et Chagas en 1910, était peut-être l'espèce *Bodo edax* et non pas *Bodo caudatus*.

Dans la plupart des descriptions publiées des diverses espèces de *Bodo* (*prowazekia*), les caractères communs ne sont pas suffisamment nombreux.

Dans les selles humaines, il y a peut-être d'autres espèces de *Bodo* encore inconnues.

Pirobodo intestinalis.

Giuseppe Sangiorgi a observé ce Flagellé dans des selles diarrhéiques de militaires, en Albanie en 1918. Il se présente sous la forme d'une poire pointue. De son extrémité antérieure

(1) MACFIE (J. W. S.) : A Flagellate frequenting the necks of bottles. *Journ. of Trop. Med. and Hyg.*, t. XX, 1^{er} janvier 1917, p. 1, fig 3, dans texte.

partent deux flagelles semblables quand l'individu est jeune, mais qui, plus tard, diffèrent en ce que l'un d'eux devient récurrent. Le cytoplasma renferme des granulations jaune verdâtre, que l'auteur considère comme étant de nature biliaire.

Les dimensions de cet organisme sont variables, il mesure de 13 à 17 μ sur 9 à 14,5 μ . Les kystes sont bien sphériques et mesurent 9 μ 6 de diamètre.

Ces Flagellés se multiplient facilement en eau peptonée. Sangiorgi a créé pour ce Flagellé un sous-genre du genre *Bodo* qu'il appelle *Pirobodo*.

CONCLUSION. — Les Ciliés de ce genre ont deux flagelles, l'un est dirigé en avant et l'autre en arrière. *Bodo caudatus* est le plus commun de tous les Flagellés coprophiles trouvés dans les selles humaines.

Bodo edax se rencontre aussi dans les selles humaines, mais il n'y est pas fréquemment. *Bodo aquæ* est un Flagellé qui a été trouvé sur le col des bouteilles d'eau physiologique et d'eau distillée au contact du bouchon de verre.

On a créé pour *Pirobodo intestinalis*, également coprophile, un sous-genre du genre *Bodo* dont il est le type; ce Flagellé est en forme de poire.

Genre *Cercomonas* DUJARDIN, 1844.

Les membres de ce genre ont deux flagelles qui s'élèvent de l'extrémité antérieure du corps, un flagelle est divisé en avant.

D'après Charles Atwood Kofoïd, 1920, il ne semble pas qu'il y ait de *Cercomonas* parasites de l'intestin humain, mais il y a des *Cercomonas* coprophiles et on a pu aussi prendre comme tels des stades flagellés de *craigia*.

Cercomonas hominis DAVAINI, 1860.

D'après Charles Atwood Kofoïd, *Cercomonas hominis* de Davaini serait un complexe de deux variétés.

La première nommée *Cercomonas davaini* par Moquin-Tandon (1860) est un synonyme de *Chilomatix mesnili* (Wenyon),

son nom correct est *Cercomonas davainei* (Moquin-Tandon).

La deuxième variété de *Cercomonas hominis* est le *Trichomonas* de l'intestin humain, dont le nom correct est *Trichomonas hominis davainei*.

Cercomonas obliqua (de Moquin-Tandon, 1860); *Trichomonas intestinalis* de Leukart (1879), et *Tricomonas confusa* de Stiles (1902) sont des synonymes de *Tricomonas hominis*.



FIG. 11. — *Cercomonas longicauda*, d'après Wenyon.

L'espèce type de *Tricomonas*, genre créé par Donné en 1837, est *Tricomonas vaginalis*. *Tricomonas vaginalis* a quatre flagelles antérieures; d'où il résulte que *Tetratrichomonas parisii*, 1910, est synonyme de *Tricomonas*, puisque *Tricomonas hominis* de l'intestin a aussi quatre flagelles.

Tetratrichomonas buccalis de Goodey et Wellings doit de même être rapporté au genre *Tricomonas*.

Tetratrichomonas disparaît donc et Kofoid (1) est amené à

(1) Kofoid (Charles-Atwood): A critical review of the nomenclature of human intestinal Flagellates, *Cercomonas*, *Trichomonas*, *Tetratrichomonas*, and *Giardia*. *Univ. of California Public, in Zool.*, t. XX, 6 juin 1920, p. 145-168, 9 fig.

créer *Tritricomonas* pour les Tricomonades avec trois flagelles antérieurs. *Tritricomonas unguata* d'Alexeïeff en est l'espèce type.

CONCLUSION. — Le genre *Cercomonas* a deux flagelles, le genre *Tricomonas* en a quatre et est synonyme de *Tetratricomonas*. Le genre *Tritricomonas* a six flagelles dont trois dirigés en avant.

Genre *Helkesimastix*.

L'extrémité postérieure du corps de ces organismes est un peu atténuée et porte un fort flagelle, inséré en avant mais rabattu en arrière où il paraît accolé au corps, qu'il dépasse de deux fois environ.

Le noyau est vésiculeux, mais n'a pas de blépharoplaste. Une vacuole contractile s'ouvre à la partie postérieure du corps.

Helkesimastix faecicola.

D'après MM. Woodcock et G. Lapage (1), ce Flagellé se rencontre dans les crottes de Chèvre et de Mouton, à l'état de kystes sphériques de 3,3 à 5 μ de diamètre. Sous l'influence de l'humidité, il sort de ces kystes un organisme de 6 à 7 μ de diamètre sur 2,5 μ , dont l'extrémité postérieure est un peu atténuée. Un gros flagelle est inséré à la partie antérieure du corps, il est rabattu en arrière et paraît accolé au corps, qu'il dépasse de deux fois sa longueur environ.

Il a un noyau vésiculeux, mais pas de blépharoplaste.

Une vacuole contractile s'ouvre à la partie postérieure du corps. Quand l'organisme est appuyé à une surface solide, le mouvement se fait par un glissement brusque de tout le corps. Quand l'organisme se trouve en plein liquide, il procède par ondulations du corps et du flagelle ou bien encore par ondulations du corps, le flagelle étant fixé par son extrémité libre.

(1) WOODCOCK (H. M.) et LAPAGE (G.) [1915] : Observations on the life cycle of a new Flagellate, *Helkesimastix faecicola* n. g. n. sp. Together with remarks on the question of syngamy in the trypanosomes. *Proc. Roy. Soc.*, B. LXXXVIII, 353.

La division est binaire. Il y a généralement résorption du flagelle et production de deux nouveaux flagelles.

Le fait le plus curieux du cycle évolutif de ce Flagellé est la conjugaison qui se produit par véritable épidémie entre individus qui, en général, diffèrent légèrement par leur extrémité postérieure.

CONCLUSION. — *Helkesimastix fæcicola* est particulièrement curieux par son mode de conjugaison qui se produit par véritables épidémies, généralement entre individus qui diffèrent légèrement par leur extrémité postérieure.

Genre *Copromastix*.

Ce genre appartient à la famille des *Tetramitidæ*. Il est caractérisé par quatre flagelles égaux dirigés en avant, un corps triangulaire avec fente buccale dépourvue d'organelles. Il n'y a ni membrane ondulante ni axostyle.

Copromastix prowazeki.

Henrique de Beaurepaire Aragão (1), en 1916, a observé ce Flagelle dans des cultures (en eau albumineuse à 1/2 p. 100) de matières fécales d'Homme et de Rat.

Il en fait le type du genre *Copromastix* caractérisé par quatre flagelles égaux dirigés en avant, un corps triangulaire avec fente buccale, dépourvue d'organelles. Il n'y a ni membrane ondulante, ni axostyle.

Du granule d'insertion des flagelles part, chez *Copromastix prowazeki*, un rhizostile, lequel, au lieu d'aboutir au noyau, le contourne et se perd dans le sarcode; les dimensions sont de 15 μ sur 8 μ .

Copromastix aragaci.

M. L. Yakimoff et M^{lle} Wasilewska ont obtenu en culture un Flagellé à corps pointu en arrière et qui porte en avant quatre

(1) ARAGAO (H. de B.) [1916] : *Copromastix prowazeki*, n. g., n. sp. (Nota previa). *Brazil medico.*, XXX, 49.

flagelles insérés au même point. Ils le cultivèrent à partir des matières fécales humaines.

Ces auteurs rapportèrent cet individu au genre *Copromastix* d'Aragao (1916) et l'appelèrent *Copromastix aragaoi*.

CONCLUSION. — Ce genre est caractérisé par quatre flagelles égaux, dirigés à l'avant d'un corps triangulaire. Il compte principalement deux espèces coprophiles : *Copromastix prowazeki* et *Copromastix aragaoi*.

Nous allons terminer cette étude en relatant un travail de P. H. Woodcock sur les Flagellés coprozoïques et qui distingue parmi ceux-ci, outre des types connus, quelques nouvelles espèces.

Woodcock a observé *Helkesimastix faecicola*; *Helkesimastix major*; *Bodo caudatus*, deux espèces de *Bodo*, sans kinetonucléus; *Monas*, *Cercomanas* (*Cercobodo*) *longicauda*, *Heteromita globosa*. *Heteromastix* et *Spiromonas angusta*, qui ont un mouvement nettement différent de celui des *Bodo* par l'absence du caractère vibratoire. *Phyllomitus undulans* de Stein avec sa curieuse particularité que les deux flagelles inégaux sont unis à leur base par une sorte de bande. *Copromonas ruminantium*, une très intéressante forme uniflagellée et enfin *Proleptomonas faecicola* qui a un mouvement très particulier. Il avance en ligne droite, comme une flèche, puis recule de la même façon, avance à nouveau et ainsi de suite. Ce Flagellé qui rappelle de très près les *Leptomonas*, parasites surtout des Insectes, en différerait par l'absence d'un kinetonucleus bien développé.

Le flagelle se termine en effet à un petit grain basal. Le corps mesure de 7 à 8 $1/2$ μ . sur 1 à $3/4$ de μ . Le flagelle a de 16 à 24 μ de long.

D'après Woodcock, tous les Flagellés qu'il a étudiés peuvent être répartis en deux catégories : *Helkesimastix spiromonas* et *Proleptomonas*, se nourrissant par osmose.

Monas, *Cercomonas*, *Bodo* et *Copromonas*, ingérant des Bactéries et autres particules organiques.

CONCLUSIONS

Le but de notre étude a été de contribuer à la détermination des Protozoaires coprophiles non parasites et non pathogènes de l'Homme, afin de prévenir leur confusion avec les Protistes dangereux.

Les méthodes qui nous ont donné les meilleurs résultats pour la coloration des Protozoaires coprophiles sont les suivantes :

Enrichir la selle à examiner suivant les indications de Telemann-Rivaz et colorer le culot au Lugol.

Mais, pour l'observation de la cytologie fine, et pour obtenir des préparations qui se conservent, nous avons fixé la selle elle-même au Bouin et nous l'avons colorée à l'Hématoxiline ferrique.

Pour la culture des Amibes libres, nous avons employé avec bon résultat le milieu ci-dessus :

Gélose, en grammes	1
Eau, en grammes.	100
NaCl.	0,75

stériliser à l'autoclave et incliner; si l'on veut avoir des cultures très riches, ajouter quelques gouttes de liquide albumineux.

Eau physiologique à 11 p. 1.000, en grammes	100
Blanc d'œuf.	1/2

Les Flagellés et les Infusoires se cultivent aussi sur ce milieu; on peut cependant leur donner une nourriture plus variée parce qu'ils sont omnivores.

Nous avons enfin tenté de grouper les caractères distinctifs des principaux Protozoaires coprophiles non parasites, et non pathogènes pour l'Homme, selon la taxologie ci-dessous :

Amibes.

Genre *Wahlkampfia* :

- Wahlkampfia punctata.*
- *whitmorei.*
- *lobospinosa.*
- *froschi.*
- *hominis.*
- *migrans.*
- *tropicalis.*

Amibe se rapprochant du genre *Wahlkampfia* :

Entamoeba phagocytoides.

Amibe qui avait été rapprochée à tort du genre *Wahlkampfia* :

Ameba Hartmannella.

Genre *Naegleria* :

- Naegleria gruberi.*
- *craigia.*
- *macronucleata.*
- *tachypodia.*

Genre *Hartmannella* :

- Hartmannella glebae.*
- *hyalina.*
- *pigerrina.*

Genre *Sappinia* :

- Sappinia pedata.*
- *diploidea.*

Ciliés.

Genre *Balantidium* :

- Balantidium giganteum.*
- *minutum.*

Genre *Colpoda* :

- Colpoda cucullus.*
- *maypasi.*
- *steini.*

Genre *Uronema* :

- Uronema caudatum.*

Genre *Chilodon* :

- Chilodon dentatus.*

Genre Nychtoterus :

Nychtoterus faba.
— *africanus.*

Flagellés.

Genre Bodo :

Bodo caudatus.
— *aquae.*
— *edax.*

Sous-genre Pirobodo :

Pirobodo intestinalis.

Genre Cercomonas :

Cercomonas hominis.

Genre Helkesimastix :

Helkesimastix faecicola.

Genre Copromastix :

Copromastix prowazeki.
— *aragaoi.*

Vu : *Le Président de la Thèse,*

COUTIÈRE.

Vu : *Le Doyen de la Faculté,*

M. RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

